Band I Heft I – 4 März 1912

Zeitschrift für Gärungsphysiologie

allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mykologie

unter Mitwirkung von

herausgegeben von

Professor Dr. Alexander Kossowicz-Wien

BERLIN

Verlag von Gebrüder Borntraeger

W 35 Schöneberger Ufer 12a

1912

Inhalt des 1. Heftes

Die „Zeitschrift für Gärungsphysiologie“ erscheint in zwanglosen Heften von je ca. 4 Bogen. Je 24 Druckbogen bilden einen Band zum Preise von 20 Mark.

Alle die **Redaktion** betreffenden Zuschriften und Sendungen (Manuskripte, Separatabdrücke, Rezensionsexemplare) sind an den Herausgeber **Professor Dr. Alexander Kossowicz, Wien II, Josef-Gall-Gasse 2**, zu richten, alle geschäftlichen Mitteilungen an die **Verlagsbuchhandlung Gebrüder Borntraeger in Berlin W 35, Schöneberger Ufer 12a.**

Das Honorar für den Bogen von 16 Seiten beträgt bei Originalarbeiten 40 Mark, Einzelreferaten 54 Mark, Sammelreferaten 70 Mark, Literaturlisten 60 Mark.

Den Originalarbeiten beigefügte Tabellen werden mit 20 Mark pro Bogen honoriert. 30 Sonderabzüge werden unentgeltlich, weitere Exemplare gegen mäßige Berechnung geliefert. Die Honorare werden nach Erscheinen des die Publikation enthaltenden Heftes angewiesen.

Zeitschrift für Gärungsphysiologie

allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mykologie

unter Mitwirkung von

V. Babes-Bukarest, **Chr. Barthel**-Stockholm, **A. Bau**-Bremen, **M. W. Beijerinck**-Delft, **W. Benecke**-Berlin, **Ph. Biourge**-Löwen, **A. J. Brown**-Birmingham, **M. Bücheler**-Weihenstephan, **R. Burri**-Liebefeld bei Bern, **A. Calmette**-Lille, **R. Chodat**-Genf, **A. Cluss**-Wien, **F. Czapek**-Prag, **M. Düggeli**-Zürich, **J. Effront**-Brüssel, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **A. Fischer**-Basel, **C. Gorini**-Mailand, **R. Graßberger**-Wien, **A. Harden**-London, **H. A. Harding**-New York, **F. C. Harrison**-Ste. Anne de Bellevue, Canada, **F. v. Höhnel**-Wien, **J. Chr. Holm**-Kopenhagen, **F. Hueppe**-Prag, **G. v. Istvánffi**-Budapest, **Orla Jensen**-Kopenhagen, **Alfred Jörgensen**-Kopenhagen, **V. v. Klecki**-Krakau, **M. Klimmer**-Dresden, **A. Koch**-Göttingen, **R. Kolkwitz**-Steglitz-Berlin, **F. Krasser**-Prag, **W. Kruse**-Bonn, **H. van Laer**-Gent, **F. Löhnis**-Leipzig, **Ch. E. Marshall**-East Lansing, Michigan, **R. Meißner**-Weinsberg, **W. Migula**-Eisenach, **H. Molisch**-Wien, **C. Neuberg**-Berlin, **W. Palladin**-Petersburg, **P. Petit**-Nancy, **P. Pichi**-Conegliano, **E. Prior**-Wien, **O. Richter**-Wien, **K. Saito**-Tokio, **A. Schattenfroh**-Wien, **W. Seifert**-Klosterneuburg, **J. Stoklasa**-Prag, Freiherr **v. Tubeuf**-München, **W. Winkler**-Wien, **J. Wortmann**-Geisenheim a. Rhein, **H. Zikes**-Wien

herausgegeben von

Professor Dr. Alexander Kossowicz-Wien

BAND I

BERLIN

Verlag von Gebrüder Borntraeger

W 35 Schöneberger Ufer 12a

1912

Druck von E. Buchbinder (H. Duske) in Neuruppin

Inhaltsverzeichnis.

Zur Einführung.

Es gibt wohl kaum eine Wissenschaft, die in verhältnismäßig kurzer Zeit einen so außerordentlichen Aufschwung, eine so großartige Entwicklung erfahren hat, wie die Gärungsphysiologie und Mykologie (Bakteriologie). Nirgends sieht man aber auch diese innige Wechselbeziehung zwischen Wissenschaft und Praxis. Schon die grundlegenden Arbeiten Pasteurs über die alkoholische Gärung hatten an die Praxis angeknüpft, denn der endgültigen Widerlegung der generatio aequivoca folgten bald die Studien über die Krankheiten des Weines, des Bieres, die Essigfabrikation usw. und allen diesen Untersuchungen lag das Streben zugrunde, Mittel ausfindig zu machen, um die Fabrikation dieser Genußmittel recht einträglich zu gestalten, sie vor Schädigungen zu bewahren. E. Chr. Hansen war es, der bald darauf die Pläne Pasteurs verwirklichen konnte, seine Einzell-Kultur, ungefähr gleichzeitig entstanden mit R. Kochs Plattenkultur, ermöglichte es nachzuweisen, daß es verschiedene Hefen, gutartige und für den Gärungsbetrieb schädliche, daß es ebenso auch verschiedene Essigbakterien gebe. Der Begriff der Reinzucht fand rasch Eingang zunächst in die Praxis der Bierbrauerei. Jedes größere Unternehmen dieser Art hatte bald sein physiologisch-biologisches Laboratorium. In diesen der Praxis gewidmeten Instituten fand die Gärungsphysiologie die erste und regste Pflege.

Auch in die Brennerei, in die Preßhefefabrikation und zum Teil auch in die Weinbereitung wurde das Reinzuchtverfahren und damit auch das gärungsphysiologische Studium kurz nachher eingeführt.

Die Forschungen Hansens über die Essigbakterien fanden bald eine wertvolle Ergänzung durch die Entdeckungen A. J. Browns, M. W. Beijerincks, Hennebergs und Rothenbachs; die beiden letztgenannten Forscher haben bekanntlich die Einführung von Essigbakterien-Reinzuchten in die Praxis der Essigfabrikation mit Erfolg unternommen.

Die Hefen, die Sproßpilze, die ursprünglich nur für die Gärungsgewerbe von Interesse schienen, haben aber bald auch die Aufmerksamkeit

anderer Forscher erregt. Ihr häufiges Vorkommen auf den verschiedensten Materialien, auf Früchten, auf Pflanzen, im Boden, in der Milch und in den Molkereiprodukten, vereint mit den kräftigen zersetzenden Wirkungen, deren sie fähig sind, machen sie zu Organismen, die sich für den Kreislauf der Materie von großer Bedeutung erweisen.

Aber auch die landwirtschaftliche und technische Bakteriologie erfuhren während dieser Zeit eine mächtige Entwicklung. Es ist noch nicht lange her, seit Lister und Hueppe die ersten Milchsäurebakterien in Reinzucht erhielten. Heute steht die Mykologie des Molkereiwesens in hoher Blüte. Zahlreiche wissenschaftlich bedeutsame Feststellungen wurden gemacht und insbesondere für die Praxis der Butterbereitung und Käsefabrikation verwertet. Ebensowenig blieb die Bodenbakteriologie zurück. Die Untersuchungen von Hellriegel und Wilfarth über die Stickstoffbindung durch Leguminosenknöllchen, denen bald die Reinzucht des Bacterium radicicola durch M. W. Beijerinck folgte, die Entdeckung freilebender stickstoffixierender Organismen durch Winogradsky, Beijerinck, Löhnis, die Auffindung nitrifizierender Mikroorganismen durch Winogradsky, stellen die wichtigsten Etappen der von zahlreichen hervorragenden Forschern ausgeführten Untersuchungen dar, die zuletzt dahin zielen, die Bodenfruchtbarkeit und den Ernteertrag zu erhöhen, der Landwirtschaft Werte zu erhalten und neue Werte zu schaffen.

Auch die zahlreichen Untersuchungen auf dem Gebiete der Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe, des Holzes, der Lederfabrikation, der Rotte der Textilpflanzen, der Reinigung der Abwässer sind lauter Arbeiten, die neben der Lösung wissenschaftlicher Fragen sich immer wieder von unmittelbarer praktischer Bedeutung für die Industrie, die Technik, die Hygiene, die verschiedensten Gewerbe, für die Landwirtschaft erwiesen.

In engem Zusammenhang damit stehen auch jene zahlreichen Forschungen, die sich auf die durch Pilze verursachten Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen und Nutztiere beziehen.

Viele rein botanisch-wissenschaftliche Fragen werden ihrer Lösung zugeführt und wirken befruchtend auf die technischen Probleme der Mykologie ein.

Waren anfänglich fast ausschließlich die Mediziner und in der Praxis der Gärungsgewerbe stehende Forscher auf dem Gebiete der Gärungsphysiologie, landwirtschaftlichen und technischen Mykologie tätig, so sehen wir nunmehr nicht bloß in allen Staaten zahlreiche technisch-bakteriologische und landwirtschaftlich-bakteriologische Institute und

besondere Akademien und Schulen für die Gärungsindustrie entstehen, auch die botanischen Institute der verschiedenen Hochschulen wenden immer mehr den Pilzen und besonders den Bakterien und Sproßpilzen als den einfachst organisierten und daher auch dem Studium der Lebensprozesse am leichtesten zugänglichen Pflanzen ihre Aufmerksamkeit zu.

Die letzten Jahre brachten wieder hervorragende Entdeckungen auf dem Gebiete der Gärungsphysiologie und Mykologie, so E. Buchners Auffindung der Zymase, des Enzyms der Alkoholgärung, die physiologisch ebenso wichtigen wie interessanten Befunde von H. Molisch über die Eisen- und Schwefelbakterien, die mit manchen wissenschaftlichen Vorurteilen aufgeräumt haben, und in methodologischer Beziehung die Tuschepunktkultur von R. Burri. Nunmehr ist es mit voller Sicherheit möglich, nicht bloß von Sproßpilzen und Schimmelpilzen oder besonders großen Bakterien absolut verläßliche von einer einzigen Zelle ausgehende Reinkulturen herzustellen, sondern auch von den kleinsten Mikroben.

Anfangs waren es fast ausschließlich die Sproßpilze (Hefen) und Bakterien allein, die die Aufmerksamkeit des technischen Mykologen erregten, bald kamen einzelne „Schimmelpilze“, die schon wegen ihrer großen Verbreitung und der vielfachen Schädigung, die sie in den Gärungs- und Nahrungsmittelgewerben verursachen, nicht gut auf die Dauer übersehen werden konnten, dazu, und so fand die technische und landwirtschaftliche Bakteriologie allmählich eine Erweiterung zur technischen und landwirtschaftlichen Mykologie. Je eingehender man nun die einzelnen Gärungs-, Zersetzungs-, Fäulnisprozesse erforschte, umso größer wurde der Formenkreis dieser „Schimmelpilze“, die man mitberücksichtigen mußte. Die genauere Untersuchung der Zersetzung gewisser Nahrungsmittel wie Obst, Gemüse, zeigte immer deutlicher die Mitwirkung jener Pilze, die schon auf dem Felde als Parasiten und Saprophyten an Pflanzen auftreten. An den Umsetzungen im Boden und Dünger betätigen sich gleichfalls eine große Zahl „höherer“ Pilze. So erwächst immer mehr dem technischen und landwirtschaftlichen Bakteriologen die Pflicht, das ganze Pilzreich in den Kreis seiner Untersuchungen und Studien zu ziehen.

Die Zahl der im Laufe der letzten Jahrzehnte entdeckten Bakterien, Hefen und eigentlichen Pilze wird immer größer und immer mehr macht sich die Forderung nach einer Einordnung dieser vielen Einzelorganismen in berechtigte Gruppen geltend, die das Erkennen, den Nachweis dieser Organismen erleichtern, ja überhaupt erst möglich machen. Die Systematik der Pilze tritt damit in den Vordergrund des Interesses. Auf diesem Gebiete liegen aber nur die ersten Anfänge vor. v. Höhnels

mit so bedeutender Sachkenntnis, so großem Scharfsinn und so außerordentlichem Fleiß jahrelang geführter Kampf gegen die Irrtümer in der Systematik der Pilze zeigen deutlich, wie wünschenswert ein Neuaufbau der ganzen Systematik der Pilze ist; und dies ist um so mehr der Fall, als man wohl mit einiger Berechtigung sagen kann, daß ein wirklicher Fortschritt auf dem Gebiete der Gärungsphysiologie, landwirtschaftlichen und technischen Mykologie außer von der Erweiterung unserer chemischen Erkenntnisse zumeist von der Ausgestaltung der Systematik der Bakterien und Pilze abhängt.

Wie Löhnis in seinem im ersten Heft dieser Zeitschrift enthaltenen Sammelreferat über die Fortschritte der landwirtschaftlichen Bakteriologie in den Jahren 1910/11 hervorhebt, sind in der Zeit vom Oktober 1909 bis Ende 1911 gegen 1200 wissenschaftliche Arbeiten auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Bakteriologie allein erschienen. Diese Angabe ist wohl der beste Beweis für die außerordentlich rege Tätigkeit, die auf diesem Gebiete entfaltet wird, und das Interesse, das man ihr entgegenbringt. Dieser Umstand rechtfertigt aber auch wohl am besten das Bestreben nach einer Zusammenfassung der vielfach so überaus verstreut erscheinenden Arbeiten, am besten die Begründung dieser Zeitschrift. Hier handelt es sich nicht um eine Konkurrenz gegenüber bestehenden Sammelorganen und Zentralblättern. Bei der großen Fülle jährlich erscheinender Abhandlungen können diese schon bestehenden Organe ohnehin kaum ihren Aufgaben nachkommen. Viele mykologische Arbeiten erscheinen in Zeitschriften, die weder dem Titel noch dem Inhalte nach zur Aufnahme dieser Abhandlungen dienen sollen. Solche Arbeiten werden nur allzuleicht übersehen, sind schwer ausfindig zu machen und sind, wenn auch ein oder das andere Referat auf sie hinweist, doch gewöhnlich für längere Zeit der Wissenschaft entrückt.

Die überaus rege Arbeit auf dem hier in Betracht kommenden wissenschaftlichen Gebiete macht es aber auch immer mehr zur Notwendigkeit, den Leser durch gediegene Sammelreferate, möglichst vollständige Literaturlisten und verläßliche Referate aus der Feder von Fachmännern, die selbst auf dem von ihnen behandelten Gebiete forschend tätig waren, mit den wichtigsten Erscheinungen der Wissenschaft vertraut zu machen; besonders diesen Aufgaben soll die Zeitschrift nach besten Kräften nachkommen.

Hat nun auch die unermüdliche Forschung der letzten Jahrzehnte so manche wichtige Frage auf gärungsphysiologischem und mykologischem Gebiete der Lösung zugeführt, so sind doch die bedeutendsten Probleme kaum angeschnitten worden und jedes Jahr bringt neue Fragen, die

von ebenso großem wissenschaftlich-theoretischen wie praktischen Interesse sind.

Die neue Zeitschrift will zunächst an der weiteren Ausgestaltung und Verbreitung der für die Praxis, für die Land- und Volkswirtschaft so wichtigen Gärungsphysiologie, der allgemeinen, landwirtschaftlichen und technischen Bakteriologie tätig mitwirken; aber auch die Systematik der Bakterien, der Gärungspilze und insbesondere auch jener höheren Pilze, die für die Umsetzungen im Boden und im Dünger und als Schädlinge der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen in Betracht kommen, wird hier in entsprechendem Maße berücksichtigt werden.

Alle Herrn Fachkollegen lade ich zur regen Mitarbeit an dieser Zeitschrift ein und bitte sie insbesondere um Förderung der Ziele derselben durch Zuwendung von Originalbeiträgen und ausführlichen Autorreferaten ihrer in anderen Zeitschriften erscheinenden Arbeiten.

Originalabhandlungen können auch in englischer, französischer und italienischer Sprache zur Veröffentlichung gelangen; in diesem Falle ist die Beigabe einer kurzen Zusammenfassung in deutscher Sprache sehr erwünscht.

Wie jedes ernste wissenschaftliche und literarische, dem Kulturfortschritte dienende Unternehmen soll auch diese Zeitschrift mit dazu beitragen, daß das wissenschaftliche Band, das ihre vielen hervorragenden Mitbegründer vereint, mit der Zeit zu einem dauernden, von dem edelsten geistigen Wettstreite beseelten Freundschaftsbunde der Völker und Nationen werde.

Wien, im Januar 1912

Der Herausgeber

Versuche über die Entsäuerung von 1910er württembergischen Weinen mittels reinen gefällten kohlensauren Kalkes.

Von **Richard Meißner-Weinsberg.**

(Bericht an das Kgl. Württ. Ministerium des Innern und die Kgl. Württ. Zentralstelle für die Landwirtschaft, mit deren Genehmigung veröffentlicht.)

Nach den Ausführungsbestimmungen zu § 4 des Weingesetzes vom 7. April 1909 ist, abgesehen von der in § 3 dieses Gesetzes gestatteten Vermischung des Weines, des Traubensaftes und der zur Rotweinbereitung benützten Maischen mit Zuckerwasser, eine zweite Möglichkeit gegeben, einen Wein mit hohem Säuregehalt bis zu einem gewissen Grade zu entsäuern, und zwar mittels reinen gefällten kohlensauren Kalkes. Theoretisch betrachtet ist der chemische Vorgang, der sich beim Entsäuern mit dieser Substanz abspielt, folgender: Freie Weinsäure oder im Wein gelöster Weinstein bilden mit dem kohlensauren Kalk unter Freiwerden von Kohlensäure weinsaures Kalzium, welches in Wasser und in schwach sauren Flüssigkeiten nur wenig löslich ist. Es scheidet sich infolgedessen dieses Salz, und damit auch die Weinsäure, zum größten Teile in der Gestalt von Kristallen im Wein aus und bewirkt dadurch eine Verminderung des Säuregehaltes des Weines. Nur ein kleiner Teil des Kalksalzes bleibt in Lösung. Wird der Weinstein durch den kohlensauren Kalk zersetzt, so bildet sich neben weinsaurem Kalk Kaliumhydroxyd, welches jedoch sofort mit den Säuren des Weines, mit der Äpfelsäure, der Milchsäure, der Bernsteinsäure, der Essigsäure in Reaktion tritt und mit ihnen die entsprechenden Salze bildet. Verwendet man dagegen beim Entsäuern größere Mengen kohlensauren Kalkes als durch die Gesamtweinsäure neutralisiert werden können, so verbindet sich das Kalzium auch mit den eben genannten Säuren des Weines zu äpfelsaurem, milchsaurem, bernsteinsaurem und essigsaurem Kalk. Diese letztgenannten Kalksalze sind jedoch in Wasser sehr leicht

Tabelle A.

Entsäuerungsversuch A.

Ursprünglicher Wein.

Laufende Nr.	Gemarkung und Lage	Traubensorte	Zeitpunkt der Untersuchung 1910/11	Farbe des Weines (Rotwein, Weißwein, Schillerwein)	Spezifisches Gewicht	In 100 ccm sind enthalten g: Alkohol	Extrakt	Freie Säuren (Gesamtsäure)	Milchsäure (Bestimmt nach dem Verfahren von Möslinger)	Flüchtige Säuren	Nichtflüchtige Säuren	Glyzerin	Zucker	Gesamtweinsäure	Freie Weinsäure	Weinstein	Weinsäure, an alkalische Erden gebunden	Extrakt nach Abzug der 0,1 g übersteigenden Zuckermenge	Extrakt nach Abzug der 0,1 g übersteigenden Zuckermenge und der nichtflüchtigen Säuren	Extrakt nach Abzug der 0,1 g übersteigenden Zuckermenge und der Gesamtsäure	Mineralbestandteile	Alkalität der Asche in ccm n-Lauge	Auf 100 g Alkohol kommen g Glyzerin	Säurerest nach Möslinger
1	Metzingen . . .	Naturwein	21. Dezember 1910 bis 27. März 1911. (Die Weine wurden zu verschiedenen Zeiten der Versuchsanstalt gesendet, wurden aber gleich nach dem Einlauf untersucht.)	rot	1,0005	5,80	3,00	1,13	0,14	0,04	1,08	0,4	unter 0,1	0,26	0	0,27	0,15	3,00	1,92	1,87	0,318	2,50	6,90	0,95
2	Uhlbach	Gezuckert		"	0,9967	6,83	2,03	0,55	0,11	0,04	0,51	0,5		0,18	0	0,23	0	2,03	1,52	1,47	0,246	2,72	7,32	0,42
3	Cannstatt . . .	Naturwein		"	1,0003	5,60	2,79	1,095	0,07	0,03	1,06	0,2		0,26	0	0,26	0,11	2,79	1,73	1,69	0,282	2,82	3,71	0,93
4	Fellbach	Gezuckert		"	1,0013	6,44	2,48	0,96	0,10	0,06	0,88	0,5	0,140	0,22	0	0,14	0,18	2,44	1,56	1,48	0,247	2,50	7,70	0,77
5	Heilbronn . . .	"		"	0,9963	7,43	2,17	0,63	0,24	0,08	0,53	0,5	unter 0,1	0,23	0	0,28	0	2,17	1,64	1,54	0,235	2,20	6,73	0,41
6	Weinsberg . . .	Trockenzuckerung		weiß	0,9969	7,36	2,35	0,70	0,14	0,04	0,65	0,3		0,20	0	0,23	0,15	2,35	1,70	1,65	0,255	2,30	4,07	0,55
7	Desgl.			rot	1,0000	6,21	2,56	0,59	0,12	0,05	0,53	0,5	0,11	0,18	0	0,23	0	2,55	2,02	1,96	0,272	2,42	8,05	0,44
8	Löwenstein . . .	Gezuckert		"	0,9969	7,46	2,26	0,73	0,20	0,06	0,65	0,4	unter 0,1	0,25	0,03	0,09	0,15	2,26	1,61	1,53	0,216	1,50	5,36	0,51
9	Stetten i. R. . .	"		weiß	0,9996	6,76	1,95	0,82	0,06	0,07	0,73	0,4		0,30	0,05	0,11	0,17	1,95	1,22	1,13	0,250	1,64	5,92	0,57
10	Neustadt i. R. . .	Naturwein		Schiller	1,0002	5,26	2,58	0,91	0,08	0,03	0,87	0,5		0,20	0	0,25	0	2,58	1,71	1,67	0,303	3,02	9,51	0,77
11	Strümpfelbach . .			rot	0,9987	5,82	2,01	0,56	0,19	0,06	0,49	0,4		0,20	0	0,25	0	2,01	1,52	1,45	0,268	2,68	6,68	0,39
12	Kleinheppach . .	Gezuckert		"	0,9969	7,91	2,37	0,93	0,09	0,03	0,89	0,3	0,127	0,23	0	0,14	0,23	2,34	1,45	1,42	0,227	2,22	3,79	0,77
13	Korb i. R. . . .	"		Schiller	0,9992	7,16	2,72	0,87	0,17	0,04	0,82	0,6	unter 0,1	0,17	0	0,21	0	2,72	1,90	1,85	0,351	2,70	8,38	0,73
14	Steinbachhof . .	"		rot	0,9987	5,08	2,12	0,68	0,13	0,04	0,63	0,3	0,132	0,23	0	0,20	0,15	2,09	1,46	1,41	0,222	2,20	6,00	0,51
15	Horrheim . . .	"		Schiller	0,9995	6,66	2,61	0,94	0,07	0,04	0,89	0,4	unter 0,1	0,22	0	0,27	0	2,61	1,72	1,67	0,271	2,42	6,00	0,75
16	Haberschlacht . .	"		"	0,9979	6,08	1,94	0,51	0,10	0,07	0,42	0,6		0,23	0	0,29	0	1,94	1,52	1,43	0,248	2,40	5,00	0,30
17	Brackenheim . .	"		rot	0,9989	6,99	2,49	0,87	0,08	0,04	0,82	0,5	0,166	0,17	0	0,21	0	2,42	1,60	1,55	0,261	2,25	7,15	0,74
18	Ingelfingen . . .	Naturwein		weiß	0,9996	6,37	2,56	0,56	0,37	0,06	0,47	0,4	unter 0,1	0,22	0	0,28	0	2,56	2,09	2,00	0,330	2,68	6,28	0,36
19	Assumstadt . . .			"	1,0014	6,02	2,91	1,18	0,09	0,06	1,10	0,6		0,27	0	0,18	0,20	2,91	1,81	1,73	0,303	2,38	9,97	0,96
20	Desgl..			"	0,9990	6,79	2,64	1,13	0,06	0,05	1,07	0,7		0,38	0,09	0,16	0,16	2,64	1,57	1,51	0,230	1,93	10,47	0,83
21	Weikersheim . .			"	1,0001	5,51	2,57	1,06	0,06	0,03	1,02	0,4		0,49	0,25	0,16	0,12	2,57	1,55	1,51	0,200	1,64	7,26	0,65
22	Hemigkofen . .			"	1,0008	5,35	2,34	1,20	0,07	0,04	1,15	0,4		0,36	0,02	0,27	0,12	2,34	1,19	1,14	0,187	2,25	7,48	0,96

löslich, sie verbleiben also im Wein. Dadurch wird aber die chemische Zusammensetzung des Weines sehr stark verändert und besonders der Aschengehalt erheblich vergrößert. Die Folge hiervon ist, daß die so behandelten Weine einen eigenartigen, salzigen Beigeschmack erhalten, der natürlich ihre Qualität in verschiedenem Grade vermindert.

In der Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg wurden bereits im Jahre 1905 Versuche über die Entsäuerung von Weinen mittels kohlensauren Kalkes angestellt. Der Grund hierfür war die zahlreich wiederholte Anfrage von seiten der Praxis, ob durch kohlensauren Kalk der Essigstich aus den Weinen entfernt werden könne. Durch die damaligen Versuche konnte gezeigt werden, daß durch 0,66 g kohlensauren Kalk in 1 Liter Wein 1 g Gesamtsäure, durch 1,32 g kohlensauren Kalk 2 g Gesamtsäure zum Verschwinden gebracht werden, daß aber die Essigsäure verhältnismäßig nur wenig angegriffen wird. (Vergl. Jahresbericht der württb. Weinbau-Versuchsanstalt für das Jahr 1905, S. 74 bis 77.) Mit anderen Worten, es mußte die oben gestellte Frage durchaus verneint werden.

Die Versuche wurden im Jahre 1910 mit einer anderen Fragestellung wieder aufgenommen, nachdem die Kommission für die amtliche Weinstatistik in Trier es für wünschenswert erachtet hatte, gerade mit Weinen aus einem ungünstigen Weinjahre die Versuche durchzuführen. Mit Genehmigung des Kgl. Württb. Ministeriums des Innern und der Kgl. Württb. Zentralstelle für die Landwirtschaft wurden die Versuche mit 22 württb. 1910er Weinen angestellt. Die Fragestellung, welche diesen Versuchen zugrunde gelegt wurde, war folgende:

1. Enthalten die zu entsäuernden Weine mit hohem Säuregehalt genügende Mengen an Weinsäure, die sich mit dem kohlensauren Kalk zu dem im Wein wenig löslichen weinsauren Kalk umsetzt?

2. Ist in dem zum Versuch verwendeten Wein bereits eine größere Menge Milchsäure gebildet?

3. Welche Mengen kohlensauren Kalkes können bei den Weinen verwendet werden, ohne daß dadurch eine geschmackliche Veränderung derselben eintritt?

4. Vermindert sich nur der Gehalt der Weine an Gesamtweinsäure oder werden auch die Milchsäure und andere Säuren des Weines angegriffen?

5. Wie gestaltet sich der spontane Säurerückgang der Versuchsweine ohne Verwendung von kohlensaurem Kalk?

Die Versuchsweine, welche in den angeschlossenen Tabellen aufgeführt sind, wurden gleich nach ihrer Ankunft in der Versuchsanstalt

auf ihre chemische Zusammensetzung untersucht (Tabelle A), um erkennen zu können, welche Veränderungen in ihnen durch die Versuchsanstellung vor sich gehen, und um die beiden ersten, oben gestellten Fragen zu beantworten. Zugleich wurde in einer Versuchsreihe je $^1/_2$ Liter der betreffenden Weine mit je 0,33 g, in einer anderen mit 0,66 g reinen gefällten kohlensauren Kalk versetzt, die Flaschen nach tüchtigem Umschütteln, wobei die freiwerdende Kohlensäure aus den Flaschen entwich, gut verkorkt und dann auf einige Zeit in den Keller gestellt, damit sich das weinsaure Kalzium kristallinisch absetzen könne. Diese Weine wurden dann auf freie Säuren (Gesamtsäure), Milchsäure, Gesamtweinsäure, freie Weinsäure, Weinstein und Weinsäure, an alkalische Erden gebunden, untersucht. (Ergebnisse in Tabellen B und B I.) Vor der chemischen Untersuchung wurden die ursprünglichen Weine mit den durch kohlensauren Kalk entsäuerten einer vergleichenden Kostprobe unterworfen, um zu erfahren, ob die Entsäuerung des betreffenden Weines zweckmäßig und vorteilhaft war, oder ob die Entsäuerung in technischer Hinsicht dem Weine zum Nachteil gereichte. In einer dritten Versuchsreihe endlich wurde je $^1/_2$ Liter der ursprünglichen Weine gleich nach ihrer Ankunft auf Flaschen gefüllt, gut verkorkt und dann vom 21. Dezember 1910 an bis zum 22. Juli 1911 im Keller, horizontal liegend, aufbewahrt. Von diesem Zeitpunkt an bis zum 15. August 1911 wurden auch diese Weine auf dieselben Bestandteile wie die entsäuerten Weine untersucht und einer Kostprobe unterworfen. (Ergebnisse in Tabelle C.)

Die Ergebnisse der Versuche lassen sich unter Zugrundelegung des Tabellenmaterials dahin zusammenfassen:

1. In allen Weinen war so viel Gesamtweinsäure vorhanden, daß trotz des Zusatzes von 0,66 g kohlensauren Kalkes pro $^1/_2$ Liter Wein noch ein Rest davon im Wein verblieb, der allerdings bei manchen Weinen sehr gering ist. (Vergl. Tabelle B I, Nr. 2, 5, 6, 7, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18.) Freie Weinsäure wurde in fünf Weinen gefunden (Tabelle A Nr. 8, 9, 20, 21 und 22) und dabei nur bei Wein Nr. 21 in größerer Menge, nämlich 0,25 %. Der Gehalt der Weine an Weinstein schwankt, abgesehen von den Weinen Nr. 8 und 9 (Tabelle A), die nur 0,09 und 0,11 % Weinstein aufweisen, zwischen 0,14 und 0,29 %. Manche der Weine (Tabelle A Nr. 2, 5, 7, 10, 11, 13, 15 bis 18) zeigen keine Weinsäure, die an alkalische Erden gebunden ist; im übrigen schwankt der Gehalt zwischen 0,11 und 0,23 %.

2. Aus den Untersuchungsergebnissen (Tabelle A) geht hervor, daß in manchen der untersuchten Weine der Säureabbau, d. h. die Umwand-

Tabelle B.

Entsäuerungs-Versuch.

Mit 0,33 g kohlensaurem Kalk pro 1/2 Liter versetzte Weine.

Laufende Nummer	Gemarkung und Lage	Zeitpunkt der Untersuchung 1911	In 100 ccm sind enthalten g							Alkalität der Asche in ccm n-Lauge
			Freie Säuren (Gesamtsäure)	Milchsäure (Bestimmt nach dem Verfahren von Möslinger)	Flüchtige Säuren	Gesamtweinsäure	Freie Weinsäure	Weinstein	Weinsäure, an alkalische Erden gebunden	
1	Metzingen . .	Vom 2. Januar bis 7. April 1911	1,03	0,07	—	0,19	0	0,24	0	2,50
2	Uhlbach . .		0,45	0,09	—	0,11	0	0,13	0	—
3	Cannstatt . .		0,99	0,07	—	0,19	0	0,24	0	2,55
4	Fellbach . .		0,86	0,08	—	0,17	0	0,21	0	3,25
5	Heilbronn . .		0,53	0,10	—	0,15	0	0,19	0	2,15
6	Weinsberg .		0,60	0,23	—	0,10	0	0,12	0	—
7	Desgl. . . .		0,49	0,22	—	0,11	0	0,14	0	—
8	Löwenstein .		0,62	0,18	—	0,17	0	0,09	0,12	1,35
9	Stetten i. R. .		0,72	0,04	—	0,21	0	0,19	0,14	1,85
10	Neustadt i. R .		0,80	0,10	—	0,13	0	0,16	0	—
11	Strümpfelbach		0,46	0,19	—	0,12	0	0,15	0	—
12	Kleinheppach .		0,82	0,09	—	0,17	0	0,21	0	2,25
13	Korb i. R.. .		0,77	0,11	—	0,12	0	0,15	0	—
14	Steinbachhof .		0,57	0,24	—	0,14	0	0,18	0	2,05
15	Horrheim . .		0,84	0,14	—	0,14	0	0,18	0	3,00
16	Haberschlacht		0,41	0,10	—	0,15	0	0,19	0	—
17	Brackenheim .		0,77	0,06	—	0,12	0	0,15	0	—
18	Ingelfingen .		0,46	0,30	—	0,13	0	0,16	0	—
19	Assumstadt .		1,08	0,05	—	0,22	—	0,23	—	—
20	Desgl. . . .		1,03	0,04	—	0,32	—	0,16	—	—
21	Weikersheim .		0,96	0,03	—	0,44	—	0,16	—	—
22	Hemigkofen .		1,10	0,07	—	0,28	0	0,27	0,13	2,35

Tabelle B I.

Entsäuerungs-Versuch.

Mit 0.66 g kohlensaurem Kalk pro 1/2 Liter versetzte Weine.

Laufende Nummer	Gemarkung und Lage	Zeitpunkt der Untersuchung 1911	In 100 ccm sind enthalten g: Freie Säuren (Gesamtsäure)	Milchsäure (Bestimmt nach dem Verfahren von Möslinger)	Flüchtige Säuren	Gesamtweinsäure	Freie Weinsäure	Weinstein	Weinsäure, an alkalische Erden gebunden	Alkalität der Asche in ccm n-Lauge
1	Metzingen . .	Vom 2. Januar bis 7. April 1911	0,93	0,06	—	0,14	0	0,18	—	3,00
2	Uhlbach . .		0,35	0,07	—	0,06	0	0,08	—	—
3	Cannstatt . .		0,89	0,07	—	0,13	0	0,16	—	3,00
4	Fellbach . .		0,76	0,08	—	0,10	0	0,13	—	3,55
5	Heilbronn . .		0,43	0,14	—	0,09	0	0,11	—	2,50
6	Weinsberg. .		0,50	0,25	—	0,05	0	0,06	—	—
7	Desgl. . . .		0,39	0,24	—	0,05	0	0,06	—	—
8	Löwenstein .		0,53	0,17	—	0,11	0	0,09	0,15	1,55
9	Stetten i. R. .		0,62	0,04	—	0,12	0	0,15	0	2,00
10	Neustadt . .		0,71	0,09	—	0,11	0	0,14	0	—
11	Strümpfelbach		0,36	0,19	—	0,05	0	0,06	0	—
12	Kleinheppach .		0,72	0,08	—	0,10	0	0,13	0	3,10
13	Korb i. R.. .		0,67	0,06	—	0,09	0	0,11	0	—
14	Steinbachhof .		0,47	0,22	—	0,05	0	0,07	0	2,70
15	Horrheim . .		0,74	0,18	—	0,08	0	0,10	0	3,15
16	Haberschlacht		0,31	0,10	—	0,06	0	0,08	0	—
17	Brackenheim .		0,67	0,06	—	0,06	0	0,08	0	—
18	Ingelfingen .		0,36	0,27	—	0,06	0	0,08	0	—
19	Assumstadt .		0,98	0,05	—	0,14	—	0,18	0	—
20	Desgl. . . .		0,93	0,04	—	0,24	—	0,13	0	—
21	Weikersheim .		0,86	0,03	—	0,32	—	0,19	0	—
22	Hemigkofen .		1,00	0,06	—	0,18	0	0,22	0,16	2,43

Tabelle C.

Entsäuerungs-Versuch.

Gelagerte, nicht mit kohlensaurem Kalk versetzte Weine.

Laufende Nummer	Gemarkung und Lage	Zeitpunkt der Untersuchung 1911	In 100 ccm sind enthalten g: Freie Säuren (Gesamtsäure)	Milchsäure (Bestimmt nach dem Verfahren von Möslinger)	Flüchtige Säuren	Gesamtweinsäure	Freie Weinsäure	Weinstein	Weinsäure, an alkalische Erden gebunden	Alkalität der Asche in ccm n-Lauge
1	Metzingen . .	Vom 22. Juli bis 15. August 1911	0,65	0,49	0,04	0,21	0	0,26	0	2,25
2	Uhlbach . .		0,49	0,11	0,07	0,18	0	0,23	0	2,23
3	Cannstatt . .		0,68	0,25	0,06	0,20	0	0,18	0,18	2,20
4	Fellbach . .		0,61	0,25	0,08	0,21	0	0,26	0	2,75
5	Heilbronn . .		0,61	0,53	0,06	0,21	0	0,26	0	2,20
6	Weinsberg . .		0,49	0,11	0,05	0,18	0	0,23	0	2,23
7	Desgl. . . .		0,58	0,29	0,05	0,18	0	0,23	0	3,00
8	Löwenstein .		0,69	0,39	0,06	0,23	0	0,10	0,15	1,45
9	Stetten i. R. .		0,54	0,13	0,06	0,27	0	0,22	0,13	2,10
10	Neustadt i. R.		0,53	0,09	0,06	0,16	0	0,20	0	2,75
11	Strümpfelbach		0,59	0,12	0,06	0,18	0	0,23	0	2,80
12	Kleinheppach .		0,53	0,17	0,05	0,20	0	0,25	0	2,20
13	Korb i. R. . .		0,56	0,50	0,06	0,15	0	0,19	0	2,60
14	Steinbachhof .		0,62	0,35	0,04	0,20	0	0,25	0	2,35
15	Horrheim . .		0,45	0,22	0,05	0,19	0	0,24	0	2,70
16	Haberschlacht		0,52	0,14	0,09	0,20	0	0,25	0	2,65
17	Brackenheim .		0,62	0,22	0,05	0,16	0	0,20	0	2,35
18	Ingelfingen .		0,49	0,15	0,06	0,18	0	0,23	0	2,65
19	Assumstadt .		0,78	0,38	0,05	0,26	0,08	0,23	0	2,40
20	Desgl. . . .		1,07	0,14	0,04	0,40	0,06	0,20	0,20	2,25
21	Weikersheim .		0,80	0,12	0,03	0,47	0,20	0,19	0,12	1,83
22	Hemigkofen .		1,14	0,10	0,05	0,36	0,02	0,28	0,12	2,35

lung der Äpfelsäure in Milchsäure und Kohlensäure, bereits kräftiger eingesetzt hatte, als die Weine zur Untersuchung gelangten. (Vergl. Tabelle A Nr. 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 13, 14, 16, 18.) Wir finden deshalb auch, daß Hand in Hand mit der Bildung der Milchsäure der Gehalt der betreffenden Weine an freien Säuren (Gesamtsäure) zum Teil schon normal oder fast normal geworden ist. Man vergleiche in dieser Hinsicht die Weine, Tabelle A Nr. 2, 5, 6, 7, 8, 11, 14, 16, 18. Bei anderen Weinen hat zwar der Säureabbau begonnen, sie besitzen aber noch einen ziemlich hohen Säuregehalt, der sich, wie aus der unten geschilderten Kostprobe hervorgeht, im Geschmack unangenehm bemerkbar macht, so bei den Weinen Tabelle A Nr. 1, 4, 13. Zehn Weine zeigten nur den ersten Anfang der Milchsäurebildung, so die Weine Tabelle A Nr. 3, 9, 10, 12, 15, 17, 19 bis 22. Bei ihnen liegen deshalb die Gehalte an freien Säuren, entsprechend dem ungünstigen Jahrgang 1910, noch ziemlich hoch. Sie bewegen sich zwischen 0,82 und 1,20 %, wobei noch an dieser Stelle bemerkt sei, daß manche der Weine bereits einer Verbesserung mit Zucker oder Zuckerwasser vor der Einsendung unterworfen waren. (Weine Nr. 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 14, 15, 16.)

3. Schon in unseren Versuchen des Jahres 1905, wie in den vorliegenden konnte die Tatsache bestätigt werden, die von Neßler[1]), Barth, Babo und Mach, Dahlen, von der Heide, und neuerdings von Kulisch entgegen anderen Angaben betont worden ist, daß nämlich 66,6 g kohlensauren Kalkes verwendet werden müssen, um in 100 Litern Wein den Säuregehalt um 1 ‰ herabzusetzen, 133,2 g kohlensauren Kalkes zur Verminderung der Säure in 100 Litern um 2 ‰. Diese Tatsache zeigen die Untersuchungsergebnisse in den Tabellen B und B I: Sofern genügende Mengen von Weinsäure in einem Weine vorhanden sind, vermindert sich fast proportional zur verwendeten Menge kohlensauren Kalkes der Gesamtsäuregehalt des Weines.

a) In allen Fällen wurde durch den Zusatz von 0,33 g kohlensauren Kalk der Gehalt der Weine an Gesamtweinsäure vermindert, der

[1]) Neßler-Windisch, Die Bereitung, Pflege und Untersuchung des Weines, 8. Aufl., Stuttgart 1908, S. 430; Barth-Meißner, Die Kellerbehandlung der Traubenweine, 2. Aufl., Stuttgart 1903, S. 105; Babo und Mach, Handbuch des Weinbaues und der Kellerwirtschaft, 2. Bd., 4. Aufl., Berlin 1910, S. 518; Dahlen, Die Weinbereitung, Braunschweig 1882, S. 812; von der Heide, Praktische Übungen in der Weinchemie und Kellerwirtschaft, Stuttgart 1911, S. 72; Kulisch, Bericht über die Tätigkeit der landw. Versuchsstation in Colmar i. E. 1909/10, S. 72; derselbe, Sachgemäße Weinverbesserung, 3. Aufl., Berlin 1909, S. 143; Meißner, Des Küfers Weinbuch, Stuttgart 1909, S. 149.

Tabelle D.

Übersicht über die Abnahmen des Gehaltes der Weine an Gesamtweinsäure, die durch die Entsäuerung verursacht worden sind.

Laufende Nummer	Herkunft der Weine	Differenz der Gehalte an Gesamtweinsäure zwischen dem der ursprünglichen Weine und dann nach der Entsäuerung der Weine mit: 1) 0,66 g $CaCO_3$ pro $^1/_2$ Liter Wein in %	2) 0,33 g $CaCO_3$ pro $^1/_2$ Liter Wein in %	Differenz der Gehalte an Gesamtweinsäure zwischen 1) und 2) in %	Bemerkungen
1	Metzingen . .	0,12	0,07	0,05	Entsäuerung entspricht der von Nr. 2.
2	Uhlbach . . .	0,12	0,07	0,05	
3	Cannstatt . .	0,13	0,07	0,06	
4	Fellbach . . .	0,12	0,05	0,07	
5	Heilbronn . .	0,14	0,08	0,06	
6	Weinsberg . .	0,15	0,10	0,05	
7	Weinsberg . .	0,13	0,07	0,06	
8	Löwenstein . .	0,14	0,08	0,06	
9	Stetten i. R. .	0,18	0,09	0,09	Entsäuerung entspricht der von Nr. 14.
10	Neustadt i. R. .	0,09	0,07	0,02	
11	Strümpfelbach .	0,15	0,08	0,07	
12	Kleinheppach .	0,13	0,06	0,07	
13	Korb i. R. . .	0,08	0,05	0,03	
14	Steinbachhof .	0,18	0,09	0,09	
15	Horrheim . .	0,14	0,08	0,06	
16	Haberschlacht .	0,17	0,08	0,09	
17	Brackenheim .	0,11	0,05	0,06	
18	Ingelfingen . .	0,16	0,09	0,07	
19	Assumstadt . .	0,13	0,05	0,08	
20	Assumstadt . .	0,14	0,06	0,08	
21	Weikersheim .	0,17	0,05	0,12	
22	Hemigkofen .	0,18	0,08	0,10	

noch stärker herabgesetzt wurde, wenn die Entsäuerung mit 0,66 g kohlensauren Kalk pro $^1/_2$ Liter Wein erfolgte. In vorstehender Tabelle D sind die Abnahmen des Gehaltes der Weine an Gesamtweinsäure übersichtlich zusammengestellt.

b) Die Abnahmen der Gesamtweinsäure sind, das geht aus der Tabelle D hervor, in keinem Falle so groß, wie sie nach der Abnahme der Gesamtsäuren sein sollten, nämlich in keinem Falle 1 bezw. 2 ‰. Am meisten nähern sich dieser Abnahme die Weine von Stetten im Remstal (Nr. 9) und vom Steinbachhof (Nr. 14), deren Gesamtweinsäure-Abnahme bei Zusatz von 0,66 g kohlensauren Kalk pro $^1/_2$ Liter Wein 0,18 %, bei Zusatz von 0,33 g kohlensauren Kalk pro $^1/_2$ Liter Wein 0,09 % beträgt und zwischen 0,66 und 0,33 g kohlensauren Kalkzusatz eine Abnahme von ebenfalls 0,09 % Säure zeigt.

c) Aus dieser Tatsache ist ohne weiteres zu schließen, daß der kohlensaure Kalk, da nachgewiesenermaßen die Abnahme der Gesamtsäure 0,1 bezw. 0,2 % beträgt, sich auch mit den anderen Säuren der Weine, Äpfelsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure zum Teil verbunden haben muß. Daß in der Tat der kohlensaure Kalk bei der Entsäuerung einen Teil der Essigsäure bindet, geht aus den Untersuchungen Dr. Reis' deutlich hervor[1]).

Das Verhalten des kohlensauren Kalkes zur Milchsäure läßt sich feststellen, wenn man die Differenzen in den Gehalten dieser Säure in den ursprünglichen und entsäuerten Weinen berechnet. In der folgenden Tabelle E sind diese Differenzen angegeben.

Beim Überblicken der Tabelle E kann man unschwer drei verschiedene Verhalten der Milchsäure feststellen: entweder nimmt der Gehalt der entsäuerten Weine an Milchsäure ab, oder er bleibt mit dem der ursprünglichen Weine gleich, oder es findet eine Zunahme des Milchsäuregehaltes statt.

Die Abnahme der Milchsäure kann entweder eine beträchtliche oder zweitens nur eine geringe sein. Im ersteren Falle war in den zu den Versuchen herangezogenen Weinen bereits eine größere Menge von Milchsäure durch Zersetzung der Äpfelsäure gebildet worden, so in den Weinen Nr. 1, 5, 13, 18, und es hatte während der kurzen Zeit ihrer Lagerung eine wesentliche Neubildung von Milchsäure nicht stattgefunden. Findet man trotz höheren Milchsäuregehaltes nur eine geringe Abnahme dieser Säure durch den Zusatz kohlensauren Kalkes, so kann in diesem

[1]) Reis, Über die Wirkung von kohlensaurem Kalk auf essigstichige Weine und Moste. Jahresbericht der Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg vom Jahre 1905, S. 76.

Tabelle E.

Übersicht über die Abnahme bezw. Zunahme des Gehaltes der Weine an Milchsäure, die durch die Entsäuerung verursacht worden ist.

Laufende Nummer	Herkunft der Weine	Differenz der Gehalte an Milchsäure zwischen dem der ursprünglichen Weine und dem nach der Entsäuerung der Weine mit		Differenz der Gehalte an Milchsäure zwischen 1) und 2)	Tag der		Lagerzeit der entsäuerten Weine in Tagen
		1) 0,66 g $CaCO_3$ pro $^1/_2$ Liter Wein in $^0/_0$	2) 0,33 g $CaCO_3$ pro $^1/_2$ Liter Wein in $^0/_0$		Entsäuerung der Weine	Untersuchung der entsäuerten Weine	
1	Metzingen . .	0,08	0,07	0,01	27. III. 11	7. IV. 11	11
2	Uhlbach . .	0,04	0,02	0,02	21. XII. 10	4. I. 11	14
3	Cannstatt . .	0	0	0	6. II. 11	23. II. 11	17
4	Fellbach . .	0,02	0,02	0	16. II. 11	10. III. 11	22
5	Heilbronn . .	0,15	0,14	0,01	27. III. 11	7. IV. 11	11
6	Weinsberg .	+ 0,11	+ 0,09	+ 0,02	16. III. 11	30. III. 11	14
7	Weinsberg .	+ 0,12	+ 0,10	+ 0,02	16. III. 11	30. III. 11	14
8	Löwenstein .	0,03	0,02	0,01	20. III. 11	30. III. 11	11
9	Stetten i. R. .	0,02	0,02	0	13. II. 11	6. III. 11	21
10	Neustadt i. R.	+ 0,01	+ 0,02	0,01	9. II. 11	1. III. 11	20
11	Strümpfelbach	0	0	0	23. I. 11	18. II. 11	26
12	Kleinheppach .	0,01	0	0,01	6. II. 11	23. II. 11	17
13	Korb i. R. . .	0,11	0,06	0,05	21. XII. 10	4. I. 11	14
14	Steinbachhof .	+ 0,09	+ 0,11	0,02	20. III. 11	30. III. 11	11
15	Horrheim . .	+ 0,11	+ 0,07	+ 0,04	13. II. 11	6. III. 11	21
16	Haberschlacht	0	0	0	9. II. 11	1. III. 11	20
17	Brackenheim .	0,02	0,02	0	16. II. 11	10. III. 10	22
18	Ingelfingen .	0,10	0,07	0,03	21. XII. 10	4. I. 11	14
19	Assumstadt .	0,04	0,04	0	21. XII. 10	2. I. 11	12
20	Assumstadt .	0,01	0,01	0	21. XII. 10	2. I. 11	12
21	Weikersheim .	0,03	0,03	0	21. XII. 10	2. I. 11	12
22	Hemigkofen .	0,01	0	0,01	23. I. 11	18. II. 11	26

Falle entweder der kohlensaure Kalk die Milchsäure in dem Grade wie im ersten Falle angegriffen haben, nur fand während der Lagerzeit eine kräftigere Bildung der Milchsäure statt — und das ist das wahrscheinlichere —, oder in den betreffenden Weinen wurde die Milchsäure vom kohlensauren Kalk nur wenig gebunden. So ist es auch wahrscheinlich, daß in allen den Fällen, wo eine Konstanz im Milchsäuregehalt gefunden wurde trotz der Entsäuerung mit kohlensaurem Kalk, die Neubildung der Milchsäure während der Lagerzeit und die Bindung der Milchsäure durch kohlensauren Kalk gleich stark war. Und endlich in den Fällen, in denen trotz der Entsäuerung eine Zunahme des Milchsäuregehaltes festgestellt werden konnte, war die Bildung der Milchsäure größer als die Bindung dieser Säure durch den kohlensauren Kalk. Es wird also dann die Bindung eines Teiles der Milchsäure verdeckt und der gefundene Gehalt der Weine an Milchsäure stellt die Resultierende dar zwischen Milchsäurebildung und Milchsäurebindung. Derartige antagonistische Vorgänge sind von Behrens[1]) und mir[2]) bereits früher sicher festgestellt worden; sie finden offenbar auch beim Säureabbau der Weine statt[3]). Daß die durch Äpfelsäurezersetzung gebildete Milchsäure durch die Weinorganismen wieder zerstört werden kann, geht übrigens auch aus den vorliegenden Untersuchungen hervor (vergl. hierzu Tabellen A und C, z. B. Wein Nr. 18. Der ursprüngliche Wein zeigte einen Milchsäuregehalt von 0,37 %, der monatelang gelagerte Wein dagegen nur noch 0,15 %). Wir wissen ferner, daß die Essigbakterien die von ihnen gebildete Essigsäure später wieder zerstören.

d) Durch die vorliegenden Untersuchungen bestätigt es sich, was bereits Dahlen im Jahre 1882 a. a. O. S. 812 berichtet, daß nämlich schon bei Zusatz von 0,33 g kohlensauren Kalk pro 1/2 Liter Wein keine freie Weinsäure mehr in den untersuchten Weinen gefunden wurde. (Vergl. Tabelle B, Weine Nr. 8, 9, 22.)

4. Entgegengesetzt zur Dahlenschen Angabe wurde aber durch die Versuche mit den 1910er württembergischen Weinen gefunden, daß in den meisten Fällen nicht mehr der ganze Weinstein in den entsäuerten Weinen vorhanden war, sondern eine Abnahme desselben stattgefunden hat. Allerdings findet man auch bei Vergleichung der Tabellen

---

[1]) Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Centralbl. für Bakt., II. Abt., IV. Bd. 1898, Sep.-Abdr. S. 41.

[2]) Meißner, Zur Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyceten. Landw. Jahrbücher XXX, S. 564—580.

[3]) Meißner, Über die Zerstörung und Bildung von Milchsäure durch Organismen. Jahresbericht der Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg für das Jahr 1904, S. 84.

A und B, daß in vier Fällen der Gehalt der Weine an Weinstein eine Erhöhung erfahren hat, so bei den Weinen Nr. 4 (von 0,14 auf 0,21 %), Nr. 9 (von 0,11 auf 0,19 %), Nr. 12 (von 0,14 auf 0,21 %) und Nr. 19 (von 0,18 auf 0,23 %). Eine gleiche Erhöhung des Weinsteinsäuregehaltes findet man beim Vergleich der Tabellen A und B I, Wein Nr. 21. Der ursprüngliche Wein enthielt 0,16 %, der mit 0,66 g kohlensauren Kalk entsäuerte aber 0,19 % Weinstein. Diese Erhöhungen des Weinsteingehaltes fielen bei der Untersuchung sofort auf. Um Untersuchungsfehler kann es sich nicht handeln, da die Untersuchungen doppelt ausgeführt und in beiden Fällen dieselben Resultate erzielt wurden. Das Verhalten läßt sich wohl dadurch erklären, daß in den betreffenden Weinen etwas von dem weinsauren Kalzium in Lösung gegangen war, das dann als Weinstein mitbestimmt wurde.

Eine der Hauptfragen bei den Versuchen war die, ob durch die angewendeten Mengen kohlensauren Kalkes eine geschmackliche Veränderung der Weine eintritt, und ob diese für die Weine von Vorteil oder Nachteil ist? Deswegen wurden, wie schon oben erwähnt worden ist, die ursprünglichen Weine vor der Untersuchung mit den durch kohlensauren Kalk entsäuerten einer vergleichenden Kostprobe unterworfen. Die betreffenden Protokolle über die Kostprobe besagen folgendes:

1. **Wein von Metzingen.** Trotz des hohen Säuregehaltes des ursprünglichen Weines ist nur eine Entsäuerung von 1 ‰ empfehlenswert und für den Wein vorteilhaft, da eine größere Menge kohlensauren Kalkes die Qualität nachteilig beeinflußt.

2. **Wein von Uhlbach.** Der ursprüngliche Wein besitzt bereits normalen Säuregehalt. Durch die Entsäuerung verliert der Wein an Wohlgeschmack, er wird leer.

3. **Wein von Cannstatt.** Der starke Säuregehalt und rauhe Geschmack wird durch die Wegnahme von 2 ‰ Säure etwas ausgeglichen. Geschmacksfehler, die durch den kohlensauren Kalk hervorgerufen sein könnten, werden nicht wahrgenommen.

4. **Wein von Fellbach.** Die Entsäuerung des Weines mit 0,33 g kohlensauren Kalk pro $^1/_2$ Liter ist vorteilhaft. Eine Entsäuerung mit 0,66 g pro $^1/_2$ Liter Wein ist eben noch angängig. Keine Geschmacksfehler durch den Kalkzusatz.

5. **Wein von Heilbronn.** Die Entsäuerung ist unvorteilhaft wegen des fast normalen Säuregehaltes des Weines. Bei 0,66 g Kalkzusatz pro $^1/_2$ Liter Wein treten Geschmacksfehler auf.

6. **Wein von Weinsberg.** Wie in Nr. 5.

7. **Wein von Weinsberg** (rot). Wie in Nr. 5.

8. **Wein von Löwenstein.** Bei der Entsäuerung kommt nur die mit 0,33 g kohlensauren Kalk pro 1/2 Liter Wein in Betracht. 0,66 g Kalk nehmen dem Wein zuviel Säure fort und verursachen Geschmacksfehler.

9. **Wein von Stetten im Remstale.** Die Entsäuerung mit 0,33 g kohlensauren Kalk ist sehr vorteilhaft, da der Geschmack des Weines dadurch sehr verbessert wird. Der Zusatz von 0,66 g Kalk ist nicht ratsam, da dadurch der Wein zu matt wird.

10. **Wein von Neustadt im Remstale.** Durch 0,66 g Kalkzusatz ist kaum eine Geschmacksbeeinflussung wahrzunehmen. Entsäuerung zu empfehlen.

11. **Wein von Strümpfelbach.** Wie Nr. 5.

12. **Wein von Kleinheppach.** Die Entsäuerung macht sich vorteilhaft bemerkbar, besonders bei der mit 0,66 g versetzten Probe. Geschmacksfehler treten durch die Entsäuerung nicht auf.

13. **Wein von Korb im Remstale.** Der Wein ist an sich im Geschmack normal. Durch die Wegnahme der Säure wird sein Charakter zu stark verändert.

14. **Wein vom Steinbachhof.** Die Entsäuerung ist zu verwerfen.

15. **Wein von Horrheim.** Die Entsäuerung mit 0,66 g Kalk ist vorteilhaft. Geschmacksfehler nach der Entsäuerung nicht bemerkbar.

16. **Wein von Haberschlacht.** Für den an sich säurearmen Wein kommt eine Entsäuerung nicht in Betracht, da der Wein dadurch fade und inhaltlos wird.

17. **Wein von Brackenheim.** Die Entsäuerung mit 0,33 g Kalk ist vorteilhaft; keine Geschmacksfehler durch die Entsäuerung.

18. **Wein von Ingelfingen.** Im Geschmack macht sich die Entsäuerung recht vorteilhaft bemerkbar. Der nicht entsäuerte Wein schmeckt rauh. Dieser rauhe Geschmack nimmt mit der Steigerung des Kalkzusatzes vorteilhaft ab. Keine Geschmacksfehler nach der Entsäuerung. Hier ist also trotz normalen Säuregehaltes des ursprünglichen Weines eine Entsäuerung noch vorteilhaft.

19. **Wein von Assumstadt.** Der ursprüngliche Wein ist stark sauer. Eine Entsäuerung mit 0,66 g Kalk pro 1/2 Liter Wein ist hier geschmacklich von großem Vorteil.

20. **Wein von Assumstadt.** Der Wein wird durch die Entsäuerung mit 0,66 g Kalk pro 1/2 Liter Wein angenehmer trinkbar.

21. **Wein von Weikersheim.** Der ursprüngliche Wein ist stark sauer. Die Entsäuerung mit 0,66 g Kalk pro 1/2 Liter Wein macht diesen am besten trinkbar. Die Entsäuerung macht sich auch hier vorteilhaft bemerkbar.

22. **Wein von Hemigkofen.** Der ursprüngliche Wein ist stark sauer und sehr hart; er eignet sich zu den Versuchen sehr gut. Durch die Entsäuerung verliert der Wein ziemlich seinen rauhen Charakter, am besten die mit 0,66 g Kalk pro 1/2 Liter entsäuerte Probe.

Zusammenfassend kann man also sagen, daß in allen denjenigen Fällen, in denen die Weine infolge eines hohen Säuregehaltes rauh und hart schmeckten, der Geschmack vorteilhaft durch die Entsäuerung, sei es mit 0,33 g oder 0,66 g kohlensauren Kalk pro 1/2 Liter Wein verbessert worden ist. Die Weine verloren nach dieser Behandlung ihre Härte und waren dann wegen ihrer Milde trinkbarer. Geschmacksfehler traten in der Gestalt eines störenden Beigeschmackes nicht auf, wenn säurereichen Weinen pro 1/2 Liter 0,33 g kohlensaurer Kalk zugesetzt wurde. In den meisten Fällen konnte ein solcher Beigeschmack auch nicht festgestellt werden, wenn 0,66 g kohlensaurer Kalk pro 1/2 Liter Wein verwendet wurde. Von einem „eigenen erdigen, pappigen Geschmack“, den der kohlensaure Kalk verleihen soll[1]), konnte in keinem Falle bei den untersuchten Proben etwas bemerkt werden.

Waren die Säuregehalte der Weine normal, so war in den meisten Fällen die Entsäuerung ein technischer Fehler. Nur bei einem Weine mit normalem Gesamtsäuregehalt, aber mit rauhem Charakter, Wein Nr. 18 von Ingelfingen, wurde durch den Zusatz von kohlensaurem Kalk der Geschmack gemildert. Mit der Milderung der Säure war in allen Fällen, wo die Entsäuerung überhaupt angängig war, eine Besserung der Weinqualität verbunden, selbst wenn in manchen Weinen auch nur 1 ‰ Gesamtsäure weggenommen war. Diese Ergebnisse mit 1910er württembergischen Weinen sind unabhängig von den Versuchsergebnissen Kulisch's gefunden worden, sie decken sich aber mit diesen[2]).

Bei Entsäuerungen in der Praxis wird man nach dem Gesagten zuerst untersuchen oder untersuchen lassen, ob die zu entsäuernden Weine genügende Mengen Gesamtweinsäure und einen hohen Gesamtsäuregehalt besitzen. Wenn beides zutrifft, so wird man sich zu überlegen haben, ob nicht gerade ein höherer Säuregehalt die Eigenart der betreffenden Weinsorte, z. B. Weißriesling, Trollinger usw. ausmacht. Denn in diesem Falle würde die Wegnahme der Eigenart einen Fehler bedeuten. Endlich wird man sich durch Vorproben davon überzeugen, wieviel reiner gefällter kohlensaurer Kalk bei einem bestimmten zu entsäuernden Wein anzuwenden ist, um ihm seine rauhe und harte Art

[1]) Babo und Mach, a. a. O., S. 516.
[2]) Kulisch, a. a. O., S. 73.

Tabelle F.

Lagerungsdauer der auf Flaschen gefüllten, nicht mit kohlensaurem Kalk behandelten Weine.

Lfde. Nr.	Herkunft der Weine	Abfüllen der ursprünglichen Weine in Flaschen Tag	Untersuchung der gelagerten Weine Tag	Lagerungsdauer der Weine auf Flaschen Tage
1	Metzingen	27. III. 11	15. VIII. 11	141
2	Uhlbach	21. XII. 10	22. VII. 11	213
3	Cannstatt	6. II. 11	1. VIII. 11	175
4	Fellbach	16. II. 11	9. VIII. 11	174
5	Heilbronn	27. III. 11	12. VIII. 11	138
6	Weinsberg . . .	16. III. 11	10. VIII. 11	147
7	Weinsberg (rot) . . .	16. III. 11	10. VIII. 11	147
8	Löwenstein	20. III. 11	11. VIII. 11	144
9	Stetten i. R.	13. II. 11	5. VIII. 11	173
10	Neustadt i. R. . . .	9. II. 11	3. VIII. 11	175
11	Strümpfelbach . . .	23. I. 11	29. VII. 11	187
12	Kleinheppach . . .	6. II. 11	2. VIII. 11	176
13	Korb i. R.	21. XII. 10	24. VII. 11	215
14	Steinbachhof	20. III. 11	14. VIII. 11	147
15	Horrheim	13. II. 11	7. VIII. 11	175
16	Haberschlacht . . .	9. II. 11	4. VIII. 11	176
17	Brackenheim	16. II. 11	8. VIII. 11	173
18	Ingelfingen	21. XII. 10	26. VII. 11	217
19	Assumstadt	21. XII. 10	27. VII. 11	218
20	Assumstadt	21. XII. 10	28. VII. 11	219
21	Weikersheim	21. XII. 10	25. VII. 11	216
22	Hemigkofen	23. I. 11	31. VII. 11	189

zu nehmen. An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß man rauhe Naturweine auch dadurch geschmacklich milder gestalten kann, daß man sie mit milderem Wein verschneidet, oder daß man schon die unreifen Traubensäfte mit Zucker oder Zuckerwasser im Herbst verbessert[1]).

5. Eine letzte Frage interessierte den Berichterstatter bei den vorliegenden Untersuchungen, wie sich der spontane Säurerückgang der

[1]) Meißner, Des Küfers Weinbuch, S. 151.

Versuchsweine ohne Verwendung von kohlensaurem Kalk gestaltet? Mit anderen Worten, ob bei den vorliegenden Versuchsweinen eine derartige Entsäuerung unbedingt notwendig war? Sieht man daraufhin die Tabelle C an, in welcher die Untersuchungsergebnisse der 138 bis 219 Tage (vergl. Tabelle F) in Flaschen lagernden Weine angegeben worden sind, so findet man, daß von den 22 württembergischen Weinen die ersten 18 Weine durch natürlichen Säureabbau während des Lagerns zum Teil sehr viel Gesamtsäure verloren haben. Im Juli und August 1911 ist deren Gesamtsäuregehalt ganz normal geworden. Nur bei den Weinen Nr. 19 bis 22 tritt die Säure im Juli 1911 noch unangenehm geschmacklich hervor, wie durch eine Kostprobe zu dieser Zeit festgestellt werden konnte. Deshalb war bei den ersten 18 Weinen die Entsäuerung nicht notwendig, während sie bei den Weinen Nr. 19 bis 22 sehr wohl am Platze gewesen ist. Merkwürdigerweise hat sich der Gehalt der Weine an Gesamtweinsäure in den Flaschen nur wenig geändert, was in höherem Grade aber wahrscheinlich im Fasse stattgefunden hätte. Der spontane Säurerückgang ist also auf die Zersetzung der Äpfelsäure in den gelagerten Weinen zurückzuführen.

Für die Praxis ergibt sich deshalb die Folgerung, auf welche auch von der Heide[1]) aufmerksam gemacht hat, die Entsäuerung von Weinen erst dann vorzunehmen, wenn man erkannt hat, daß der natürliche Säureabbau nicht oder in nicht genügendem Maße in einem Weine sich einstellen will.

[1]) Babo und Mach, a. a. O., S. 517.

Über die Wirkung der Diastase und des Emulsins auf die alkoholische Gärung und die Atmung der Pflanzen.

Von **Sergius Lwow.**

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Laboratorium der St. Petersburger Universität.)

Die moderne Physiologie ist nicht ohne Erfolg bestrebt, den komplizierten Prozeß der Atmung auf eine Reihe von fermentativen Prozessen zurückzuführen[1]). Es ist gegenwärtig noch recht schwer, sich darüber auszusprechen, ob der Atmungsprozeß durch die Wirkung von Fermenten vollständig erschöpft wird. Dafür, daß die Fermente eine dominierende Rolle in diesem Prozesse spielen, spricht der gesamte Cyclus der heutigen Forschungen, deren Aufzählung überflüssig erscheint.

Die Atmungsfermente befinden sich im Inneren der Zelle, ihre Arbeit steht in Abhängigkeit von den übrigen Fermenten, welche das ihnen notwendige Material vorbereiten.

Es drängt sich die Frage auf, in welcher Weise die künstliche Einführung ähnlicher, aus anderer Quelle stammender Fermente auf den Akt der Atmung, d. h. auf die Tätigkeit der Atmungsfermente, einwirken würde? Man kann hier folgende Umstände in Betracht ziehen: 1) die unmittelbare Wirkung eines Fermentes auf ein anderes und 2) die komplizierte, nicht immer genau zu erfassende Wirkung des gemeinsamen Komplexes von Bedingungen jenes Mediums, in dem der neue Faktor seine Tätigkeit entwickeln muß. — Wir wissen, daß es Fermente gibt, so zu sagen Antagonisten, welche die Arbeit der übrigen Fermente hemmen. Hierzu gehört z. B. die Endotryptase der Hefe, welche die Wirkung der Zymase abschwächt. Schon Hahn und Geret haben auf die Erscheinung der Selbstverdauung im ausgepreßten Hefensaft hingewiesen[2]). Speziell mit dieser Frage haben sich Gromow und Grigoriew beschäftigt[3]), welche auf Grund einer Reihe von Versuchen die zerstörende Wirkung der Endotryptase auf die Zymase in unanfechtbarer Weise nachgewiesen haben. Wie sehr diese Abhängigkeit fühlbar ist,

[1]) Vergl. z. B. die Arbeit von Palladin unter dem äußerst charakteristischen Titel: „Die Atmung als Summe fermentativer Prozesse" (Mémoires de l'Acad. Imp. des Sciences de St. Pétersbourg, 1907, Russisch).

[2]) E. Buchner und Hahn. Die Zymasegärung. S. 287.

[3]) Gromow und Grigoriew. Zeitschr. f. physiol. Chemie, **42**, 299, 1904.

kann man schon danach beurteilen, daß alle, die Energie der Endotryptase erhöhenden Einwirkungen, sofort eine Abschwächung der Zymase herbeiführen. Salzsaures Chinin hemmt die Arbeit der Endotryptase — befördert demnach jene der Zymase. Salpeter, $CaCl_2$ — sind der ersteren günstige Stoffe — demnach schädlich für die letztere usw.

Die Wirkung hoher Temperatur mit analogen Folgen für die Zymase ist in der Arbeit von Frl. Petruschewsky[1]) nachgewiesen worden. Hier kann die Wirkung des einen Fermentes auf ein anderes keinerlei Zweifel hervorrufen: Die Eiweißkörper spaltende Endotryptase greift auch die Zymase an, einen Körper, der wahrscheinlich einen eiweißartigen Charakter besitzt. Nicht ebenso klar ist die Wirkung der Peroxydase auf die Zymase. Schon Bach hatte nachgewiesen, daß die Peroxydase eine schädliche Wirkung auf die Arbeit der Zymase ausübt[2]). Das gleiche geht auch aus den Versuchen von Palladin in bezug auf das anaërobe Atmungsenzym hervor[3]).

Abgesehen von einer solchen unmittelbaren Wirkung eines Fermentes auf ein anderes, hat man es viel häufiger mit einem komplizierteren Verlauf von gegenseitigen Einwirkungen zu tun: in Abhängigkeit von dem jeweiligen Zustande des Mediums, in welches ein neues Ferment eingeführt wird, kann dieses letzere eine ganz verschiedene Wirkung auf den Verlauf der enzymatischen Prozesse aufweisen. Von solchen spezifischen Zuständen des Mediums ist der Zustand der lebenden und der abgetöteten (nicht der abgestorbenen) Zelle von besonderem Interesse[4]). Der Unterschied dieser zwei Zustände ist anläßlich einer speziellen Gelegenheit von R. und W. Albert[5]) erstmals hervorgehoben, von Buchner[6]) und Trommsdorf[7]) in bestimmterer Weise formuliert und von Palladin[8])

---

[1]) Anna Petruschewsky. Zeitschr. f. physiol. Chemie, **50**, 251, 1907.

[2]) A. Bach. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., 1664, 1906.

[3]) Die durch etiolierte Blätter von *Vicia Faba* in einer Wasserstoffatmosphäre und sodann an der Luft ausgeschiedene Summe von CO_2 ist beträchlich größer als die Menge von CO_2, welche bei Kontrollversuchen in Luft allein ausgeschieden wird. Das Verhältnis beträgt $\frac{428}{286}$. Hieraus folgert der Verfasser, daß die anaërobe Atmung das zu verbrennende Material für die hierauf eintretenden Oxydationsprozesse vorbereitet. Genügt dieses Material nicht, so übt das Oxydationsenzym offenbar eine zerstörende Wirkung auf das anaerobe Enzym aus. Zeitschr. f. physiol. Chemie. **47**, 415, 1906.

[4]) Abgestorbene Zellen sind Zellen, in denen nicht nur das Protoplasma, sondern auch die Fermente vernichtet sind. In abgetöteten Zellen fahren die Fermente fort zu funktionieren.

[5]) R. und W. Albert. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt., VII.

[6]) E. Buchner. Die Zymasegärung.

[7]) Trommsdorf. Zentralbl f. Bakt. II Abt., VIII, 1912, S. 87.

[8]) W. Palladin, Abderhaldens Fortschritte der naturwiss. Forschung, 1, 1910.

seinem biologischen Inhalt nach erweitert worden und hat sich als für die Wissenschaft oft sehr fruchtbringend erwiesen. Auf diesen Unterschied gestützt, haben Palladin und seine Mitarbeiter in zahlreichen Arbeiten dargelegt, welch schroffen Abänderungen die Wirkung verschiedener Faktoren unterworfen wird, wenn wir das zu untersuchende pflanzliche Objekt aus dem einen Zustande in den anderen überführen[1]). In meiner vorliegenden Arbeit wird man neue Beispiele finden können, durch welche dieser Gedanke bestätigt wird.

Die Frage nach der Wirkung der von außen eingeführten Fermente ist in der Pflanzenphysiologie augenscheinlich noch nicht aufgeworfen worden; in der Tierphysiologie dagegen hat sie schon seit langer Zeit den Charakter einer Streitfrage angenommen.

Es genügt hier auf die diesbezüglichen Arbeiten von Béchamp und Baltus, Bergmann und Angerer, Hildebrandt[2]), Fermi*), Kionka*), Tschepurkovsky[3]) u. a. m. hinzuweisen. Von diesen Arbeiten bietet diejenige von Hildebrandt das größte Interesse für uns, und zwar wegen der scharfen Formulierung der darin enthaltenen Schlüsse. Hildebrandt besteht in entschiedenster Weise auf der unbedingt toxischen Eigenschaft der in den lebenden Organismus eingeführten Fermente. In der Tat gingen mit wenigen Ausnahmen alle Tiere, denen er subkutane oder intravenöse Injektionen verschiedenartiger Fermente (darunter Diastase und Emulsin) machte, zugrunde; je weniger Ferment dabei dem Organismus dieser Tiere zugeführt wurde, um so länger leisteten dieselben seiner Wirkung Widerstand. Die Injektion eines Fermentes war unausbleiblich von einer beträchtlichen Temperaturerhöhung begleitet und rief dabei eine ganze Reihe von ernsten pathologisch-anatomischen Folgen hervor. Hildebrandt gelangt zu dem Schlusse, daß die Fermente in fremden Organismen ein Toxin hervorbringen, welches für den Organismus tödlich ist. Von Arbeiten, in denen die toxische Wirkung der Fermente geleugnet wird, mag die Arbeit von Fermi erwähnt sein, gegen die von Kionka, welcher die Schlußfolgerungen Hildebrandts bestätigte, ernstlicher Widerspruch erhoben wurde.

Endlich muß noch die sehr gediegene und eingehende Arbeit von Tschepurkovsky hervorgehoben werden, der namentlich mit natürlichen

---

[1]) W. Palladin, Ibid. Hier findet man auch Hinweise auf die anderen Arbeiten.

[2]) H. Hildebrandt. Virchow's Archiv, **121**, 1, 1890; **131**, 5, 1893.

[3]) Tschepurkovsky. Zur Frage über die toxische Wirkung nicht organisierter Fermente. St. Petersburg, 1898. (Russisch.)

*) Mit diesen Arbeiten bin ich durch deren Darlegung bei Oppenheimer (Die Fermente und ihre Wirkungen. Bd. I, 1910, S. 94 u. ff.) und Tschepurkovsky (siehe das vorhergehende Zitat) bekannt geworden.

Fermenten (Magen- und Pankreassaft) gearbeitet hat, welche er durch Prof. Pawlov von mit einer Fistel versehenen Hunden erhalten hatte. Die Arbeit von Tschepurkovsky ist gegen Hildebrandt gerichtet und der Verfasser ist bestrebt, den Nachweis dafür zu liefern, daß die von jenem festgestellte toxische Wirkung der Fermente ausschließlich dadurch zu erklären sei, daß die von ihm verwendeten Präparate nicht rein waren. Bei den Versuchen von Tschepurkovsky erholten sich die injizierten Tiere sehr rasch von dem leichten, durch die Injektion hervorgerufenen Unwohlsein, wenngleich in den meisten Fällen doch eine beträchtliche Erhöhung der Körpertemperatur und lokale Störungen zu verzeichnen waren. Aus allem eben Mitgeteilten wird man schließen müssen, daß die Frage nach der toxischen Wirkung der Fermente auf den tierischen Organismus auch bis auf den gegenwärtigen Zeitpunkt noch unbeantwortet geblieben ist. Die hauptsächlichste Ursache für diese Unbestimmtheit ist in den Fermenten selbst zu suchen. Bis jetzt haben wir noch nicht die Möglichkeit, über chemisch reine Präparate zu verfügen. Die im Handel erhältlichen Präparate, die wir zu verwenden gezwungen sind, befinden sich in einem von idealer Reinheit sehr weit entfernten Zustande und stellen in den meisten Fällen eine unbestimmte Mischung verschiedener, durch Alkohol fällbarer Substanzen dar. Es ist daher nicht zu verwundern, wenn die Schlußfolgerungen der einen Autoren von anderen leicht angezweifelt oder mit Mißtrauen betrachtet werden, wobei letztere geneigt sind, die erhaltenen Resultate auf unbekannte Beimischungen des Präparates zurückzuführen. Dieser nicht zu eliminierende Umstand bildet die Schattenseite aller derartiger Arbeiten.

Während indessen in der Tierphysiologie eine derartige Unbestimmtheit in bezug auf die Frage nach der Wirkung der Fermente auf den Organismus herrscht, ist diese Frage in der Pflanzenphysiologie überhaupt noch nicht berührt worden. Und doch bietet diese Frage gerade hier, wenigstens in bezug auf den Atmungsprozeß, ein sehr bedeutendes Interesse, insofern wir die Atmung als eine Reihe von fermentativen Prozessen auffassen.

Auf den Vorschlag Herrn Prof. Palladins hin, habe ich mich denn auch entschlossen, die vorliegenden Untersuchungen auszuführen.

Der bei einer anderen Gelegenheit von Palladin unternommene Versuch, die Pravazsche Spritze zu verwenden und die Methode der intrazellularen Injektion auszunützen, war von keinem Erfolg begleitet, so daß ich mich genötigt sah, eine mehr elementare Methode anzuwenden, nämlich die pflanzlichen Objekte in Lösungen verschiedener Fermente einzubringen. Ein solches Verfahren mußte naturgemäß die Deutung der

erhaltenen Resultate in ungünstiger Weise beeinflussen, indem es die streng durchgeführte Präzision der Schlußfolgerungen erschwerte. Aber auch abgesehen davon, erweist es sich sehr häufig als unmöglich zu entscheiden, auf Kosten welchen Bestandteiles des Präparates die eine oder die andere Wirkung dieses letzteren zurückzuführen sei. In solchen Fällen drücke ich mich oft in der Weise aus: „Diastase, Emulsin wirken in dieser oder jener Weise, ohne damit von vornherein entscheiden zu wollen, ob die Fermente selbst an dieser Wirkung schuld sind.

In dieser ersten Arbeit teile ich einige Resultate mit, welche ich bei dem Studium der Wirkung zweier Fermente, der Diastase und des Emulsins, erhalten habe. Der Umstand, daß ich gerade diesen beiden Fermenten in erster Linie meine ausschließliche Beachtung gewidmet habe, ist damit zu erklären, daß mir schon beim Beginn meiner Untersuchungen eine merkwürdige und dabei sehr scharf ausgesprochene Wirkung dieser Fermente auf die Tätigkeit der Zymase, dieses mächtigen Faktors in dem Atmungsprozeß der Pflanzen, aufgefallen war.

Was die Technik anbetrifft, so habe ich bei meinen Untersuchungen hauptsächlich Pettenkofersche Röhren mit Barytwasser zur Messung der ausgeschiedenen Kohlensäure verwendet. Zum Titrieren gebrauchte ich Oxalsäure.

Als Objekt benutzte ich hauptsächlich im Handel erhältliche Präparate abgetöteter Hefen — Hefanol und Zymin, von höheren Pflanzen dagegen — etiolierte Stengelspitzen von Bohnen (*Vicia Faba*). Die Objekte wurden in Chudjakoff-Richtersche Gefäße eingelegt, an denen Gläser nach Tischtschenko angebracht waren und zwar mit Wasser allein für lebende Objekte und mit Wasser + Toluol (als Antisepticum) für abgetötete Objekte. In letzterem Falle goß ich noch außerdem vor Beginn des Versuches zu jeder Portion je 1 ccm Toluol hinzu. Die Luft wurde mit dem Aspirator ausgesogen und natürlich durch einen Apparat zur Absorption der in ihr enthaltenen CO_2 geleitet.

Die Portionen mit Hefanol und Zymin wurden stets auf gleiche Weise zubereitet; auf jede Portion wurden 50 ccm destillierten Wassers abgemessen und 5 g Saccharose oder ein anderes Kohlehydrat hinzugefügt, d. h. es wurden 10⁰/₀ige Lösungen hergestellt. Hierauf wurde die entsprechende Menge Hefanol oder Zymin hinzugefügt und — in den Versuchsportionen — ein gewisses Gewichtsquantum Ferment. Weiter unten benutze ich den Ausdruck: „Versuch mit fünf-, zwei-, (usw.) prozentigem Ferment. Dies soll heißen, daß zu 50 ccm Wasser entsprechend $2^1/_2$, 1 (usw.) g des Präparates hinzugesetzt wurden. Im Nachstehenden ist dies nicht immer hervorgehoben worden.

Wenn ein Versuch mit gekochtem Ferment ausgeführt werden mußte, wurde das entsprechende Quantum dieses letzteren mit 50 ccm Wasser zum Sieden gebracht und erst dann, nach der Abkühlung, Saccharose und Hefanol hinzugefügt.

1ter Versuch.

5%ige Taka-Diastase und Hefanol.

I. Kontrollportion: 50 ccm 10%iger Saccharoselösung + 3 g Hefanol. II. Versuchsportion: Dasselbe + 2½ g Taka-Diastase. Die gebildete Kohlensäure ist, wie überall, wo nichts weiter vermerkt, in mg angegeben. Temperatur während des Versuches 17—18° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Taka-Diastase (5%)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.
3	22,8	7,6		
4	43,2	10,8		
14½	67,6	4,7	3,6	
24	28,4	1,2		
24	4,8	0,7		
	166,4		3,6	

Es läßt sich hier ein sehr deuliches Resultat konstatieren. Im Vergleiche mit der Kontrollportion hat die Versuchsportion eine so minimale Menge von CO_2 ausgeschieden, daß man von einem vollständigen Stillstande der alkoholischen Gärung sprechen kann. Die Taka-Diastase, in dem oben angegebenen Verhältnis verwendet, bringt die alkoholische Gärung der Saccharose zum Stillstand.

2ter Versuch.

Bei dem 2ten Versuche verminderte ich die Menge der Taka-Diastase und verwendete statt einer 5%igen eine 2%ige Lösung derselben, d. h. anstatt 2½ g nur 1 g. Temperatur 16½—18° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Taka-Diastase (2%)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.
5	34,6	6,9	9,6	1,9
16	84,3	5,3	0,3	—
24	48,3	2,0	—	—
24	7,5	0,3	—	—
	174,7		9,9	

Das Quantum der ausgeschiedenen CO_2 ist etwas beträchlicher, als bei dem 1ten Versuche, allein immer noch außerordentlich gering, so daß die aus dem 1ten Versuche hervorgegangene Schlußfolgerung auch hier noch in Kraft bleibt.

3ter Versuch.

1%ige Taka-Diastase, d. h. nur 0,5 g Taka-Diastase und Hefanol. Temperatur während des Versuches 17—19° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Taka-Diastase (1%)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.
4	28,5	7,1	3,2	0,8
4	40,4	10,1	12,8	3,2
16	75,1	4,7	11,6	0,7
24	28,1	1,2	3,4	0,1
24	5,1	0,2	—	—
	177,2	—	31,0	—

4ter Versuch.

2%ige Taka-Diastase und Zymin (3 g).

I. Kontrollportion: 50 ccm 10%ige Saccharoselösung + 3 g Zymin.

II. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g Taka-Diastase. Temperatur während des Versuches 17—19° C.

Versuchsdauer in Stnnden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Taka-Diastase (2%)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.
3	30,3	10,1	21,9	7,3
3	58,1	19,4	19,5	6,5
16	168,4	10,5	56,0	3,5
6	45,0	7,5	6,1	1,0
24	60,0	2,5	0,6	0,1
24	4,8	0,2	—	—
	366,6	—	104,1	—

5ter Versuch.

4%ige Taka-Diastase und Zymin (4 g).

I. Kontrollportion: 50 ccm 10%iger Saccharoselösung + 4 g Zymin.

II. Versuchsportion: Dasselbe + 2 g Taka-Diastase. Temperatur während des Versuches 17½—19° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Taka-Diastase (4%)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Std.
2	38,4	19,2	30,2	15,1
3	55,5	18,5	19,2	8,4
18	307,8	17,1	48,6	2,7
24	127,2	5,3	6,3	0,3
24	26,4	1,1	—	—
24	7,2	0,3	—	—
	562,5	—	104,3	—

Betrachten wir die Resultate des 3ten, 4ten und 5ten Versuches und vergleichen dieselben mit denjenigen des 1ten und 2ten Versuches, so sehen wir, daß dieselben in qualitativer Hinsicht übereinstimmen. Die Taka-Diastase legt, wie auch vorher, eine äußerst verderbliche Wirkung auf die alkoholische Gärung an den Tag. Allein man kann jetzt nicht von einer völligen Unterdrückung dieser letzteren sprechen. Je energischer die Zymase arbeitet und je relativ weniger Taka-Diastase verwendet wird, umso schwächer ist auch deren Wirkung. Es besteht offenbar eine bestimmte gegenseitige Beziehung zwischen der Quantität Zymase und der Quantität Taka-Diastase, bei welcher die Wirkung der Zymase aufhört. Die Taka-Diastase muß in verhältnismäßig großen Gewichtsmengen verwendet werden, damit ihre Wirkung zutage tritt. Bildet dieselbe wirklich ein Gift für die Zymase, so unterscheidet sich dieses Gift jedenfalls seinen Eigenschaften nach scharf von jenen Giften, welche schon in minimalen Dosen totbringend sind, und bei denen der Effekt der Wirkung ein so überraschend großer ist im Vergleich zu der Quantität der giftigen Substanz. Die Zymase und die Taka-Diastase neutralisieren sich gewissermaßen gegenseitig, indem sie ihre aktiven Eigenschaften aufheben. Jedenfalls steht fest, daß die zwischen ihnen vor sich gehende, uns unbekannte Reaktion nicht nach dem Typus der Katalyse verläuft, sondern eher nach dem Typus der Sättigung.

6ter Versuch.

Bei den vorhergehenden Versuchen verwendete ich ein Taka-Diastase-Präparat und war geneigt, den Effekt der Wirkung den Diastase-Präparaten überhaupt zuzuschreiben. Späterhin nahm ich das Präparat von Merk (welches ich weiter unten der Kürze halber als Merk-Diastase bezeichnen werde). Ich stellte mit demselben einen Versuch an, in der Voraussetzung, analoge Resultate zu erzielen. Zu meiner Verwunderung

wurde ein umgekehrter, sozusagen entgegengesetzter, Effekt erzielt. Nachstehend teile ich die Ergebnisse dieses Versuches mit:

I. Kontrollportion: 50 ccm 10 %iger Saccharoselösung + 3 g Hefanol.
II. Dasselbe + 1 g Taka-Diastase (2 %).
III. Dasselbe + 1 g Merk-Diastase (2 %).

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Taka-Diastase (2 %)		III. Versuchsportion Merk-Diastase	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
4	30,1	7,5	8,6	2,1	16,2	4,0
4	32,4	8,1	2,8	0,7	44,1	11,0
15	82,8	5,5	—	—	105,4	7,0
24	38,4	1,6	—	—	50,1	2,1
24	2,4	0,1	—	—	12,2	0,5
24	—	—	—	—	2,5	0,1
	186,1	—	11,4	—	230,5	—

Die Merk-Diastase weist nicht im geringsten eine unterdrückende Wirkung auf die Zymase auf. Im Gegenteil, sie erhöht die Energie ihrer Tätigkeit, wenn auch nur schwach.

7ter Versuch.

Einprozentige Taka-Diastase und Merk-Diastase (d. h. je 0,5 g). Im übrigen dieselben Versuchsbedingungen.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Taka-Diastase (1 %)		III. Versuchsportion Merk-Diastase	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
5	36,5	7,3	15,5	3,1	17,5	3,5
2	16,2	8,1	5,1	2,5	18,8	9,4
24	98,3	4,1	14,4	0,6	108,4	4,5
24	26,4	1,1	2,5	0,1	36,2	1,5
24	4,1	0,2	—	—	12,3	0,5
	182,1	—	37,5	—	193,2	—

In schroffem Gegensatze zu der Taka-Diastase ergibt die Merk-Diastase, ebenso wie in vorstehenden Versuchen, eine Erhöhung der Ausscheidung von CO_2 gegenüber der Kontrollportion, obgleich die Stimulation, bei einer Herabsetzung ihrer Konzentration um das Doppelte, bedeutend schwächer geworden ist und die Ausscheidung von CO_2 sich derjenigen der Kontrollportion zu nähern beginnt. Beachtung verdient jene merkwürdige Tatsache, daß während der ersten Stunden des Ver-

suches der mittlere stündliche Austritt von CO_2 in der Portion mit Merk-Diastase bedeutend schwächer ist, als in der Kontrollportion, und erst späterhin eine sehr energische Ausscheidung von CO_2 beginnt, welche jene der Kontrollportion schließlich überholt.

Wie dem nun auch sein mag, so ist es doch klar, daß die beiden verschiedenen Diastase-Präparate in bezug auf die Zymase einander diametral entgegengesetzte Eigenschaften an den Tag legen.

8ter Versuch.

Von dieser unerwarteten Tatsache überrascht, stellte ich den nächsten Versuch mit zuvor dem Kochen ausgesetzten Präparaten an, um die Fermente abzutöten. 50 ccm Wasser wurden mit 0,5 g Taka-Diastase und Merk-Diastase zum Kochen gebracht und erst dann nach erfolgter Abkühlung Saccharose (zu 5 g) und Hefanol (zu 3 g) hinzugefügt. Nachstehend teile ich die Ergebnisse dieses Versuches mit.

Temperatur während des Versuches 17—19 ° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Gekochte Taka-Diastase		III. Versuchsportion Gekochte Merk-Diastase	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
4	26,0	6,5	35,2	8,8	20,4	5,1
16	92,8	5,8	116,4	7,3	46,8	2,9
24	50,4	2,1	79,6	3,3	51,6	2,1
24	19,2	0,8	26,4	1,1	7,2	0,3
24	3,1	0,1	4,8	0,2	—	—
	191,5	—	262,4	—	126,0	—

Das erhaltene Resultat war sehr effektvoll, indem es ein dem früheren entgegengesetztes Bild darbot. Die mit genügender Schärfe ausgesprochene Rolle des Stimulators ist von der Merk-Diastase auf die Taka-Diastase übergegangen. Die Merk-Diastase hat die Tätigkeit der Zymase nicht nur nicht verstärkt, sondern sie hat dieselbe im Gegenteil sogar herabgesetzt, wenn auch in nicht sehr bemerkbarem Grade.

9ter Versuch.

Zymin (3 g) mit nichtgekochter und gekochter Taka-Diastase (2 %).

I. Kontrollportion: 50 ccm 10 %iger Saccharoselösung + 3 g Zymin.

II. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g nichtgekochter Taka-Diastase.

III. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g gekochter Taka-Diastase.

Temperatur während des Versuches 17—19 ° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Nichtgekochte Taka-Diastase		III. Versuchsportion Gekochte Taka-Diastase	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
4	40,2	10,0	36,1	8,0	100,3	25,0
2	38,6	19,3	23,6	11,8	56,1	28,0
16	172,0	10,8	38,0	2,4	352,4	22,0
5	40,3	8,1	5,2	1,0	97,2	19,4
25	70,0	2,8	—	—	198,2	8,0
23	2,8	0,1	—	—	100,5	4,4
24	—	—	—	—	26,8	1,1
	363,9	—	102,9	—	931,5	—

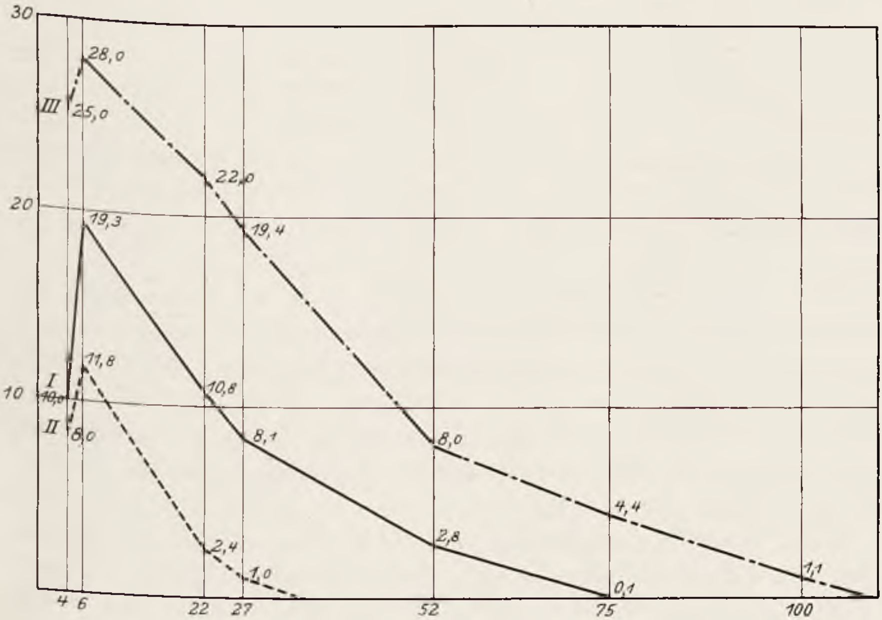


Fig. 1.

Die Resultate des 9ten Versuches mit gekochter und nichtgekochter Diastase sind in den Kurven dargestellt. Die Kurven sind berechnet auf Grund der mittleren CO_2-Mengen in je einer Stunde im Verlaufe verschiedener aufeinanderfolgenden Intervalle. Die Kurve verschiebt sich (von der Kurve des Kontrollversuches I) sehr scharf nach oben bezw. nach unten, je nachdem nicht gekochte (Kurve II) oder gekochte (Kurve III) Taka-Diastase in Anwendnng kam.

10ter Versuch.

Versuchsbedingungen wie im vorigen Versuch, nur verwendete ich für sämtliche Portionen anstatt 3 g, 4 g Zymin und in den Versuchsportionen II und III anstatt 1 g, 2 g Taka-Diastase (d. h. 4 %).

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Nichtgekochte Taka-Diastase		III. Versuchsportion Gekochte Taka-Diastase	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
$1^1/_2$	99,2	19,8	52,8	10,6	125,2	83,5
$3^1/_2$					123,2	35,2
19	328,0	17,3	55,2	2,9	536,0	28,2
6	56,0	9,3	3,1	0,5	134,8	22,5
17	32,8	1,9	—	—	205,5	11,8
24	14,5	0,6	—	—	144,8	6,1
24	—	—	—	—	60,3	2,5
24	—	—	—	—	7,5	0,3
	516,0	—	111,1	—	1337,3	—

Die zwei letzten Versuche 9 u. 10 bieten eine deutliche Illustration dafür, in wie schroffer Weise die Wirkung der Taka-Diastase in die entgegengesetzte Richtung umschlägt, nachdem das Ferment durch Kochen vernichtet wurde.

Nach dem Kochen wirkt die Taka-Diastase in gerade entgegengesetzter Richtung. Bei der Merk-Diastase gelangt die entgegengesetzte Erscheinung zur Beobachtung, obgleich ihre Wirkung sowohl in dieser, wie auch in jener Richtung überhaupt schwächer ist. Woher dieser Unterschied? Diese Frage habe ich nicht aufklären können, doch verdient sie, wie mir scheint, eine Beachtung.

Die eigenartigen Wirkungen der Taka-Diastase auf die Zymase können natürlich nicht der Diastase, dem Enzym selbst, als einem Stärke in Zucker verwandelnden Ferment, zugeschrieben werden. Beide Präparate verhalten sich in diesem Sinne gleichartig und dennoch ist ein scharfer Unterschied zwischen denselben vorhanden. Dieser Unterschied bleibt, wenn auch im entgegengesetzten Sinne, auch nach dem die spezifischen Eigenschaften der Diastase zerstörenden Kochen zwischen ihnen bestehen. Vielleicht sind in den Präparaten außer der Diastase noch andere Fermente enthalten, in denen wir die Ursache der erwähnten Erscheinungen zu suchen haben? Wir kennen Fermente, welche Ant-

agonisten der Zymase darstellen, wie z. B. die Endotryptase, zum Teil auch die Peroxydase. Ihr Antagonismus ist in der lebenden Zelle eine der Bedingungen für die zweckmäßige Koordinierung ihrer Funktionen, d. h. dieser Antagonismus bildet hier ein notwendiges Postulat des Lebens, nicht aber des Todes. Der Antagonismus ist eine Einschränkung, nicht ein augenblickliches Abtöten. Und doch hat in einigen meiner Versuche (namentlich in den Versuchen 1 und 2) die Taka-Diastase die Zymase so zu sagen gänzlich und augenblicklich getötet. Es ist schwer anzunehmen, daß man eine so entschiedene und effektvolle Tätigkeit sekundären Beimischungen des Präparates zuschreiben kann. Augenscheinlich liegt die Hauptursache wo anders verborgen. Wo sie aber zu suchen ist, weiß ich einstweilen noch nicht. Ich möchte mir nur erlauben eine rein aprioristische Vermutung auszusprechen.

Die Taka-Diastase wird aus *Aspergillus Oryzae* gewonnen, die Merk-Diastase dagegen aus Gerste, einer Pflanze, welche in genealogischer Beziehung von dem Schimmelpilze ungeheuer weit entfernt steht. Die Funktion der Verzuckerung der Stärke behufs Überführung derselben in lösbaren Zustand ist, man kann wohl sagen, eine allgemein verbreitete Funktion im Pflanzenreiche. Wenn sich nun zur Ausübung dieser Funktion von alten Zeiten her ein gleichartiger Mechanismus — das Diastaseferment — herausgebildet hat, welches sich auf allen Stufen der Pflanzenwelt weit verbreitete, so ist es wohl sehr fraglich, ob dieser Mechanismus, bei aller seiner funktionellen Gleichartigkeit, überall und stets in allen seinen Teilen eine vollkommene Identität beibehalten hat. Was die Diastase als chemischer Körper vorstellt, ist uns einstweilen unbekannt, allein es unterliegt keinem Zweifel, daß dieser Körper sehr kompliziert ist. Es ist schwer anzunehmen, daß im Verlaufe vieler Jahrhunderte und Jahrtausende die allgemeine Evolution diesem Körper nicht ihren Stempel aufgedrückt haben würde.

In den verschiedenen Typen der Pflanzen bemerkt man weitgehende biologische Unterschiede, und es ist wohl möglich, daß die Diastase, indem sie überall ihre Grundfunktion (das Verzuckern der Stärke) beibehielt, sich in ihren sekundären Eigenschaften an den biologischen Typus der betreffenden Pflanzengruppe angepaßt hat. In diesem Sinne ist es wohl möglich, daß es nicht nur eine, sondern mehrere Diastasen gibt, so sehr sie auch in ihrer grundlegenden Funktion übereinstimmen. In diesem Falle wäre es gar nicht zu verwundern, wenn die in so sehr voneinander verschiedenen biologischen Laboratorien, wie es die Gerste und *Aspergillus Oryzae* sind, zubereiteten Diastasen in einigen Beziehungen entgegengesetzte Eigenschaften an den Tag legen. Es ist

ferner möglich, daß in der Taka-Diastase außer der Diastase auch noch andere stark wirkende Stoffe enthalten sind.

11ter Versuch.

Taka-Diastase und Merk-Diastase mit Glykose. Hefanol (3 g).

Bis jetzt hatte ich immer nur von der Wirkung der Taka-Diastase auf die Zymase gesprochen. Allein alle bisher erwähnten Versuche wurden mit Saccharose angestellt. Es kann sich die Frage aufdrängen, ob nicht die Taka-Diastase ihre zerstörende Wirkung nicht auf die Zymase, sondern vielmehr auf das Invertin richtet, indem sie auf diese Weise die Saccharose in ein für die Zymase nicht zugängliches Material verwandelt? Zur Beantwortung dieser Frage ersetzte ich die Saccharose durch andere Kohlehydrate. Die übrigen Bedingungen waren die gewöhnlichen.

I. Kontrollportion: 50 ccm 10 %iger Glykoselösung + 3 g Hefanol.
II. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g Taka-Diastase.
III. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g Merk-Diastase.
Temperatur während des Versuches 17—18° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Nichtgekochte Taka-Diastase (2 %)		III. Versuchsportion Nichtgekochte Merk-Diastase (2 %)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
7	35,7	5,1	8,4	1,2	52,5	7,5
18	71,6	4,0	4,0	0,2	95,4	5,3
22	54,0	2,5	—	—	61,6	2,8
3	3,6	1,2	—	—	4,5	1,5
24	7,5	0,3	—	—	12,5	0,5
	172,4	—	12,4	—	226,5	—

Es erweist sich mit Deutlichkeit, daß das Invertin für die vorliegende Frage nicht in Betracht kommt. Die Taka-Diastase und die Merk-Diastase wirken gerade auf die Zymase.

12ter Versuch.

Anstatt Saccharose habe ich Maltose verwendet. Im übrigen wurden dieselben Bedingungen eingehalten wie in vorstehenden Versuchen.

I. Kontrollportion: 50 ccm 10 %iger Maltoselösung + 3 g Hefanol.
II. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g nichtgekochter Taka-Diastase.
III. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g nichtgekochter Merk-Diastase.
Temperatur 18—19½° C.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Nichtgekochte Taka-Diastase (2 %)		III. Versuchsportion Nichtgekochte Merk-Diastase (2 %)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
5	27,5	5,5	1,6	0,3	26,0	5,2
17,5	72,9	4,2	7,2	0,3	112,4	6,4
3	6,3	2,1			9,3	3,1
20	18,8	0,9	—	—	19,2	0,96
	125,5	—	8,8	—	166,9	—

13ter Versuch.

Es entstand noch eine Frage, und zwar, ob nicht die Taka-Diastase aus dem Grunde in so verderblicher Weise auf die Zymase einwirkt, weil sie kein Material für ihre direkte Arbeit, d. h. keine Stärke vor sich hat? Ein mit Stärke ausgeführter Versuch widerlegte diese Annahme.

I. Kontrollportion: 50 ccm Wasser + 5 g lösliche Stärke + 3 g Hefanol.

II. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g nichtgekochte Taka-Diastase.

III. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g nichtgekochte Merk-Diastase.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Nichtgekochte Taka-Diastase (2 %)		III. Versuchsportion Nichtgekochte Merk-Diastase (2 %)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
$4\frac{1}{4}$	34,8	8,2	6,0	1,4	40	9,4
$4\frac{1}{2}$	23,6	5,2	1,6	0,4	50	11,1
$18\frac{1}{4}$	60,8	3,3	—	—	107,2	5,9
20	32,0	1,6	—	—	36,4	1,8
3	0,9	0,3	—	—	1,5	0,5
	152,1	—	7,6	—	235,1	—

Diese Resultate stimmen mit denjenigen der vorstehenden Versuche vollkommen überein. Eine direkte Analyse ergab, daß die Gesamtmenge der Stärke in den Portionen II und III verzuckert war.

14ter Versuch.

Es war interessant zu verfolgen, auf welche Weise Taka-Diastase die Selbstgärung des Hefanols beeinflußt. Versuch mit Wasser ohne irgendwelche Kohlehydrate.

I. Kontrollportion: 50 ccm Wasser + 3 g Hefanol.
II. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g Taka-Diastase.
III. Versuchsportion: Dasselbe + 1 g Merk-Diastase.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion		II. Versuchsportion Nichtgekochte Taka-Diastase (2 %)		III. Versuchsportion Nichtgekochte Merk-Diastase (2 %)	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
6	15,2	2,5	6,0	1,0	3,6	0,6
17	14,0	0,8	2,1	0,1	4,4	2,6
27	4,0	0,15	—	—	17,6	0,65
3	—	—	—	—	0,4	0,1
	33,2	—	8,1	—	65,6	—

Die Resultate sind wie jene in den vorstehenden Versuchen.

Ich muß hier bemerken, daß die Resultate der letzten vier Versuche (11—14) nicht miteinander verglichen werden können, da ich gezwungen war, verschiedene Hefanolpräparate zu verwenden.

15ter Versuch.

Bis jetzt hatten wir es mit Hefanol und Zymin zu tun. Es war nun von Interesse nachzuforschen, welche Wirkung die Taka-Diastase auf die Atmung der höheren lebenden Pflanzen ausüben würde. Als Objekt verwendete ich zuerst Weizenkeime (aus einer Züricher Mühle). Leider erwies sich dieses Material als ungeeignet. Die verschriebene Portion war augenscheinlich übermäßig getrocknet worden und die Keime zeigten kaum eine Spur von Atmung. Nachstehend teile ich das Resultat dieses Versuches mit.

Die Keime, je 5 g in jeder Portion, wurden zwei Stunden aufgeweicht, indem sie in einer dünnen Schicht in den Kristallisierschalen ausgebreitet wurden, in welche je 50 ccm Flüssigkeit aufgegossen war, und zwar

für die 1te Portion = Wasser;
für die 2te Portion = eine Lösung von Taka-Diastase (2 1/2 g in 50 ccm Wasser).

Hierauf wurden die Keime in den Atmungsapparat eingebracht.

Während der ersten 6 Stunden befand sich in den Tischtschenkoschen Gefäßen nur Wasser, später wurde noch Toluol zugegossen.

Versuchsdauer in Stunden	I. Kontrollportion Wasser		II. Versuchsportion 5 %ige Lösung Taka-Diastase	
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stunde
3	16,0	5,3	17,6	5,9
3	8,4	2,8	12,8	4,3
25	21,6	0,9	21,8	0,9
	46,0	—	52,2	—

Auf Grund dieser Zahlen könnte man glauben, daß die Taka-Diastase keine vernichtende Wirkung auf die Atmung der Weizenkeime ausübt; im Gegenteil, die Zahlen sind im Vergleich mit der Kontrollportion sogar etwas höher ausgefallen. Allein an und für sich sind sie so unbedeutend, daß ich dieses Material eliminieren und zu einem anderen greifen mußte. Nichtsdestoweniger gibt dieser wenig zuverlässige Versuch seinen Resultaten nach übereinstimmende Angaben mit dem nächstfolgenden Versuche, bei dem etiolierte Stengelspitzen von Bohnen (*Vicia Faba*) verwendet wurden.

16ter Versuch.

Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba* wurden in 3 Portionen eingeteilt (zu 7,75 g, 7,45 g und 7,25 g) und auf einen Tag an einem dunklen Orte in flachen Kristallisationsschalen aufbewahrt, in welche je 100 ccm 10 %ige Saccharoselösung gegossen wurde. Am nächsten Tage wurden die trübe gewordenen Lösungen abgegossen, die Pflanzen mit einer Zuckerlösung der gleichen Konzentration abgespült und noch einen Tag lang in erneuerten Lösungen gehalten. Am nächsten Tage wurden die Pflanzen auf drei Stunden in den Atmungsapparat eingebracht und darauf von neuem in Kristallisationsschalen übergeführt, usw.

Portion I — auf reine Saccharose der früheren Konzentration (100 ccm).

Portion II — auf die gleiche Menge Saccharose der gleichen Konzentration, aber mit Hinzufügung von 2 g Taka-Diastase.

Portion III — desgleichen, aber mit Hinzufügung von 2 g Merk-Diastase.

Am darauf folgenden Tage wurden die Pflanzen herausgenommen, mit 10 %iger Saccharose abgespült und auf 3 Stunden in den Atmungsapparat eingebracht. Hierauf wurden sie von neuem in Kristallisationsschalen mit den gleichen, nur erneuerten Lösungen übergeführt und nach 24 Stunden von neuem auf 3 Stunden in den Atmungsapparat gestellt.

Zuletzt wurden sie der Einwirkung niederer Temperatur (nach der üblichen Methode von Palladin) ausgesetzt. Die Temperatur wurde bis auf — 17,5° C herabgesetzt. Am darauffolgenden Tage wurden die Pflanzen in den Atmungsapparat gestellt, wo sie etwas über 2 Tage verblieben. Nach dem Gefrieren nahm die Portion mit Taka-Diastase eine deutliche schwarze Färbung an. Die Resultate dieses Versuches sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Versuchsdauer in Stdn.	I. Kontrollportion (7,75 g)				II. Versuchsportion (7,45 g) Taka-Diastase				III. Versuchsportion (7,25 g) Merk-Diastase			
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion
	Alle drei Portionen wurden während 2 Tagen im Dunkeln auf 10% Saccharose kultiviert											
3	21,6	7,2	93	100 %	20,8	6,9	92	99 %	20	6,7	91	98 %
	Noch ein Tag auf Saccharose				Ein Tag auf Sacharose mit 2 g Taka-Diastase				Ein Tag auf Sacharose mit 2 g Merk-Diastase			
3	20	6,7	86	100 %	35,2	11,7	157	182 %	22,4	7,5	103	120 %
	Noch ein Tag auf Saccharose				Noch ein Tag auf Saccharose mit 2 g Taka-Diastase				Noch ein Tag auf Saccharose mit 2 g Merk-Diastase			
3	11,2	3,7	48	100 %	22,4	7,5	100	208 %	15,2	5,1	70	146 %
	Darauf wurden alle drei Portionen zum Erfrieren gebracht (niedrigste Temperatur = — 17,5°)											
27	40,4	1,5	19	100 %	67,2	2,5	33	173 %	42,4	1,8	22	116 %
21	31,2	1,3	17	100 %	42,4	1,8	24	141 %	29,6	1,2	17	100 %
51	71,6	1,4	36	100 %	109,6	2,2	57	158 %	72	1,4	39	108 %

Wie schon früher bei den Weizenkeimen, so legt die Taka-Diastase auch hier keinerlei schädliche Wirkung mehr an den Tag. Im Gegenteil, hier, im Atmungsprozeß einer höheren Pflanze spielt sie die entgegengesetzte Rolle eines Stimulators. Diese stimulierende Wirkung tritt besonders deutlich zutage, so lange die Pflanzen am Leben sind (im Vergleich mit der Kontrollportion stieg die Energie der Atmung um 82% und 108%); nachdem die Pflanzen durch Kälte abgetötet worden waren, nahm diese Wirkung etwas ab, blieb aber immerhin erhalten (im Vergleich mit der Kontrollportion betrug das Anwachsen 73% und 41%, im Mittel für die gesamte Zeit 58%). Das gleiche Bild, wenn auch

in bedeutend schwächerem Grade, kann man auch mit der Merk-Diastase beobachten. Die entsprechenden Zahlen des Anwachsens der Atmungsenergie sind — für die erste Phase 20 % und 46 %, für die zweite 16 % und 0 %, im Mittel 8 %. Gegen das Ende des Prozesses ist hier demnach die Portion mit der Merk-Diastase der Kontrollportion gleich gekommen.

Die Taka-Diastase legt ihre Tätigkeit viel deutlicher an den Tag, so lange die Pflanzen am Leben sind, als wenn sie abgetötet sind. Weiter unten werden wir sehen, daß das Emulsin unter analogen Bedingungen gerade entgegengesetzt wirkt. Dieses verschiedene Verhalten zwei Phasen der Atmung gegenüber veranlaßt uns zu der Frage, wodurch beide sich im wesentlichen voneinander unterscheiden. Nach den Angaben von W. Palladin ergeben lebende etiolierte Spitzen von *Vicia Faba*, welche mit Zucker ernährt wurden, im Wasserstoffstrom annähernd äquivalente Quantitäten Kohlensäure und Alkohol, d. h. es geht in ihnen während der Anaërobiose eine typische alkoholische Gärung vor sich[1]).

Unter gleichen Bedingungen bilden abgetötete Objekte im Vergleich zu CO_2 auffallend wenig Alkohol; die anaërobe Atmung läßt sich nicht mehr in die Formel der alkoholischen Gärung unterbringen (nach den Endprodukten)[2]). Das Abtöten durch niedere Temperatur hat eine tiefgehende Umwandlung in dem Chemismus der Pflanze hervorgerufen und im Zusammenhang mit dieser Umwandlung haben wir denn auch eine Änderung in der Intensität der Einwirkung seitens der Taka-Diastase zu vermerken. Diese Intensität hatte ihr Maximum erreicht, solange der anaërobe Prozeß nach der Formel der alkoholischen Gärung verlief, und sie ist bedeutend gesunken, nachdem unter der Einwirkung der niederen Temperatur der vitale Apparat der Zelle in dieser eine Störung erfahren hat und die Anaërobiose begonnen hat von ihrem früheren Verlaufe abzuweichen.

Die Versuche mit Diastasen haben demnach nachstehende Resultate ergeben:

1. Nichtgekochte Taka-Diastase wirkt in stark unterdrückender Weise auf die alkoholische Gärung, insofern letztere einen funktionell-abgeschlossenen Prozeß darstellt (in Hefanol und Zymin).

---

[1]) W. Palladin. Die Atmung der Pflanzen als eine Summe von fermentativen Prozessen. St. Petersburg, 1907, S. 31—32. Versuch 17. (Russisch.) Biochem. Zeitschrift **18**, 1909, S. 151.

[2]) Ibid., S. 32. Versuch 18. Auch W. Palladin und S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 223—224, **48**, 1906. Versuch 6.

2. Nach dem Abkochen verändert die Taka-Diastase ihre Wirkung in die entgegengesetzte, sie wird zum Stimulator der Zymase.

3. Dieser Unterschied in der Wirkung gekochter und nicht gekochter Taka-Diastase macht die Annahme wahrscheinlich, wonach die erwähnten Wirkungen der Taka-Diastase irgend welchen fermentativen Eigenschaften des Präparates zuzuschreiben sind.

4. Auf die Atmung höherer Pflanzen, und zwar sowohl lebender, wie auch abgetöteter (*Vicia Faba*, zum Teil Weizenkeime), wirkt die Taka-Diastase in stimulierender Weise.

5. Diese stimulierende Wirkung tritt bei der Atmung lebender Objekte (*Vicia Faba*) besonders deutlich zutage, wo die Anaërobiose nach den Angaben von W. Palladin nach der Formel der alkoholischen Gärung verläuft.

6. Von besonderem Interesse ist eine Nebeneinanderstellung des 1ten und 5ten Punktes: wo die alkoholische Gärung in reiner Weise, durch keine oxydierenden Prozesse kompliziert, ihren Verlauf nimmt, da erreicht die Taka-Diastase das Maximum ihrer zerstörenen Tätigkeit.

Wo dagegen die alkoholische Gärung nur eine biologisch mit den darauffolgenden Oxydationsprozessen verbundene Anfangsphase darstellt, da erreicht die Taka-Diastase das Maximum ihrer stimulierenden Tätigkeit.

7. Die Merk-Diastase erweist auf die Zymase, im Vergleich zu der Taka-Diastase, eine entgegengesetzte, allein weniger effektive Wirkung; vor dem Kochen stimuliert sie die Zymase ein wenig, nach demselben hemmt sie dieselbe ein wenig.

8. Ohne an und für sich irgend welche merkwürdigen Eigentümlichkeiten an den Tag zu legen, verhielt sich die Merk-Diastase nichtsdestoweniger als Objekt der Vergleichung mit der Taka-Diastase die ganze Zeit über sehr abweichend. Ihr auffallender Gegensatz in der Wirkung auf die Zymase bleibt einstweilen ein Rätsel, welches unsere Aufmerksamkeit fesselt. Sollte dessen Lösung nicht in den Eigenschaften der Diastase selbst gesucht werden müssen, welche aus einander so unähnlichen Objekten gewonnen wird, wie *Aspergillus Oryzae* und Gerste es sind?

Das andere Ferment, mit dem ich gearbeitet habe, war das Emulsin. Mit ihm wurden viel weniger Versuche angestellt und ich muß meine Schlüsse als vorläufige Betrachtungen ansehen, welche noch mehr als die auf die Taka-Diastase begründeten, einer späteren Prüfung bedürfen.

17ter Versuch.

1te Portion (Kontrollportion): auf 50 ccm Wasser wurden 5 g Saccharose + 3 g Hefanol genommen.

2te Portion: das gleiche + 1 g Emulsin (d. h. ein 2%iger Gehalt desselben in der Flüssigkeit). Das Emulsin löst sich sehr schwer, ein beträchtlicher Teil desselben befindet sich in Gestalt einer sich rasch niederschlagenden Trübung, welche ich hier nicht entfernte.

3te Portion: 50 ccm Wasser wurden mit 1 g Emulsin gekocht und hierauf 5 g Saccharose mit 3 g Hefanol hinzugefügt.

Beim Kochen bildete sich ein reichlicher Niederschlag, welcher in dieser Portion nicht abfiltriert wurde.

4te Portion: 50 ccm Wasser wurden mit 1 g Emulsin gekocht, der gebildete Niederschlag nach Abkühlung abfiltriert und dem durchsichtigen Filtrat 5 g Saccharose und 3 g Hefanol hinzugefügt.

Alle vier Portionen schieden während der ganzen Zeit folgende Quantitäten von CO_2 in mg ab:

1te Portion (Kontrollportion)	168,2
2te Portion (mit nicht gekochtem Emulsin)	16,0
3te Portion (mit gekochtem und nicht abfiltriertem Emulsin) .	12,5
4te Portion (mit gekochtem und abfiltriertem Emulsin) . . .	10,4

Aus den gewonnenen Zahlenresultaten ist ersichtlich, daß das Emulsin eine stark unterdrückende Wirkung auf die Zymase ausübt, gleich der Taka-Diastase. Allein zum Unterschied von letzterer wird diese schädliche Wirkung auch nach dem Kochen noch weiter ausgeübt. Leider ist es mir einstweilen noch nicht gelungen, die Wirkung verschiedener Dosen von Emulsin zu untersuchen. Die zu diesem Zwecke angestellten Versuche mußten ausgeschlossen werden, indem das verwendete Hefanol sich als verdorben erwies. Wir müssen uns daher einstweilen mit dem Resultat begnügen, daß bei dem angegebenen Verhältnis (1 g Emulsin auf ein Quantum Zymase, welches fähig ist 168 mg Kohlensäure zu entwickeln) das Emulsin sowohl im ungekochten, wie auch im gekochten Zustande verderblich auf die Zymase wirkt. Weiter unten werden wir sehen, daß das Emulsin auch in bezug auf *Vicia Faba* nicht den geringsten Unterschied an den Tag legt, mag es in gekochtem oder in ungekochtem Zustande verwendet werden. Bei dem letzten Versuche mit Hefanol (4te Portion) habe ich sogar eine von dem beim Kochen des Emulsins ausgefällten Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit verwendet, und auch diese Flüssigkeit hatte ihre verderblichen Eigenschaften nicht eingebüßt. Alles dieses spricht offenbar

dafür, daß es sich hier nicht um das Ferment selbst handelt, sondern um seine Zerfallsprodukte oder um irgend welche in dem verkäuflichen Emulsin enthaltenen Beimischungen.

18ter Versuch.

Mit etiolierten Stengelspitzen von *Vicia Faba* (vgl. die Tabelle 2).

Tabelle 2.

Versuchsdauer in Stdn.	I. Kontrollportion (19 g)				II. Versuchsportion (19 g) Nichtgekochtes Emulsin				III. Versuchsportion (19 g) Gekochtes und abfiltriertes Emulsin			
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion
	Alle drei Portionen wurden während 2 Tagen im Dunkeln auf 10 % Saccharose kultiviert											
3	57,6	19,2	101	100 %	60	20	105	104 %	58	19,3	102	101 %
	Noch ein Tag auf Saccharose				Noch ein Tag auf Saccharose mit 2 g nichtgekochten Emulsins				Ein Tag auf Saccharose mit 2 g gekochten und abfiltrierten Emulsins			
3	66,8	22,3	117	100 %	68	23	119	102 %	69,1	23,0	121	103 %
	Noch ein Tag auf Saccharose				Noch ein Tag auf Saccharose mit 2 g nichtgekochten Emulsins				Noch ein Tag auf Saccharose mit 2 g gekochten und abfiltrierten Emulsins			
3	62,8	20,9	110,2	100 %	63,2	21,1	111	100 %	62,8	20,9	110,2	100 %
	Darauf wurden alle drei Portionen zum Erfrieren gebracht											
4	23,6	5,9	31	100 %	23,2	5,8	30,5	99 %	23,2	5,8	30,5	99 %
19,5	54,8	2,8	14,8	100 %	96	4,9	25,9	175 %	98	4,9	26,5	179 %
25	21,2	0,8	4,5	100 %	57,6	2,3	12,1	269 %	70	2,8	14,7	327 %
22,5	sehr wenig				42,8	1,9	10	—	47,2	2,1	11	—
	99,6	—	—	100 %	219,6	—	—	220 %	238,4	—	—	239 %

25. X. Es wurden 3 Portionen zu je 19 g abgewogen und in flachen Kristallisationsschalen untergebracht, in welche je 100 ccm 10 %ige Saccharose hinzugegossen wurden.

26. X. Die trübe gewordenen Lösungen wurden abgegossen, die Pflanzen mit 10 %iger Saccharose abgespült und auf einen weiteren Tag in frische ebensolche Lösungen eingebracht.

27. X. Die Pflanzen wurden abgespült und auf 3 Stunden in den Atmungsapparat gestellt (erste Zeile der Zahlen in der Tabelle). Hierauf wurden sie in Kristallisationsschalen mit 10 %iger Saccharose übergeführt, der zweiten Portion wurden 2 g nicht abgekochten Emulsins, der dritten Portion dagegen 2 g abgekochten und von dem Niederschlag abfiltrierten Emulsins hinzugefügt.

28. X. Die Pflanzen wurden in gewohnter Weise abgespült und auf drei Stunden in den Atmungsapparat gestellt (zweite Zeile der Zahlen in der Tabelle), hierauf von neuem auf einen Tag in erneuerte Lösungen von der früheren Beschaffenheit übergeführt.

29. X. Die Pflanzen wurden abgespült und von neuem auf drei Stunden in den Atmungsapparat gestellt (dritte Zeile der Zahlen in der Tabelle).

Hierauf wurden alle drei Portionen nach der Methode von W. Palladin zum Gefrieren gebracht und am 30. X. in den Atmungsapparat gestellt (letzte 5 Zeilen der Zahlen in der Tabelle).

19ter Versuch.

Indem ich (bei dem vorhergehenden Versuche) durch das gänzliche Fehlen irgend welcher Wirkung des Emulsins auf lebende Objekte, vor allem aber dadurch überrascht war, daß das Abweichen der Versuchsportionen von der Kontrollportion nicht sofort, sondern erst nach vier Stunden eintrat, stellte ich nochmals einen ganz übereinstimmenden Versuch an, nur mit dem Unterschiede, daß auf jede Portion statt 19 g nur je 8 g etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*, frisch getriebene, genommen wurden (vergl. die Tabelle 3).

Die erzielten Resultate sind auffallend übereinstimmend. Auf Grund derselben müssen wir vor allem schließen, daß sowohl das nicht gekochte, wie auch das gekochte Emulsin in ganz übereinstimmender Weise auf *Vicia Faba* wirkt. Ferner fällt der Umstand auf, daß das Abweichen der Zahlenangaben von der Kontrollportion erst nach dem Gefrierenlassen beginnt. Auf lebende Objekte übt das Emulsin nicht den geringsten Einfluß aus. Die lebende Zelle stellt für das Emulsin gleichsam eine Festung mit unzugänglichen Mauern dar. Das die Zymase so energisch angreifende Emulsin erweist sich in diesem Falle als gänzlich unwirksam. Hier haben wir mit einem vollständigen Typus der Atmung zu tun, bei der nach den heutigen Anschauungen als erste Phase die

Tätigkeit der Zymase auftritt, auf welche im isolierten Zustande das Emulsin eine so zerstörende Wirkung ausübt. Nichtsdestoweniger ist es hier ganz unschädlich für dieselbe. Augenscheinlich besitzt die lebende Zelle von *Vicia Faba* die Eigenschaft, die Tätigkeit des Emulsins zu lähmen. Eine ähnliche Erscheinung hat Frl. Korsakow[1]) bezüglich des selenigsauren Natrons beobachtet.

Tabelle 3.

Versuchsdauer in Stdn.	I. Kontrollportion (8 g)				II. Versuchsportion (8 g) Nichtgekochtes Emulsin				III. Versuchsportion (8 g) Gekochtes und abfiltriertes Emulsin			
	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion	Gesamte CO_2-Menge	CO_2-Menge pro 1 Stde.	Auf 100 g pro 1 Stde.	In % der Kontrollportion
	Alle drei Portionen wurden während 2 Tagen im Dunkeln auf 10 % Saccharose kultiviert											
3	25,4	8,5	106	100 %	25,1	8,4	105	99 %	26,5	8,8	110	104 %
	Noch ein Tag auf Saccharose				Ein Tag auf Saccharose mit 2 g nichtgekochten Emulsins				Ein Tag auf Saccharose mit 2 g gekochten und abfiltrierten Emulsins			
3	28,6	9,5	119	100 %	29,1	9,7	121	102 %	29,3	9,8	122	102 %
	Noch ein Tag auf Saccharose				Noch ein Tag auf Saccharose mit 2 g nichtgekochten Emulsins				Noch ein Tag auf Saccharose mit 2 g gekochten und abfiltrierten Emulsins			
3	28,1	9,4	117	100 %	28,5	9,5	119	102 %	28,8	9,6	120	103 %
	Darauf wurden alle drei Portionen erfroren											
3,5	13,5	3,9	48	100 %	13,0	3,7	46	96 %	13,8	3,9	49	102 %
21	35,8	1,7	21	100 %	64,4	3,1	38,4	182 %	62,8	3	37	176 %
23	20,1	0,9	11	100 %	48,8	2,1	26,5	241 %	46,4	2	25	229 %
24	7,3	0,3	3,7	100 %	35,6	1,5	18,5	493 %	33,2	1,4	17	460 %
24	sehr wenig				12,1	0,5	6,2	—	12,5	0,5	6,5	—
—	76,7	—	—	100 %	172,9	—	—	227 %	168,4	—	—	221 %

Anders verhält es sich mit abgetöteten Objekten. In ihnen nimmt der anaërobe Prozeß, wie weiter oben angegeben wurde, eine andere

[1]) Korsakow, Berichte botan. Gesellsch. 1910, S. 334.

Gestalt an, und läßt sich nicht mehr in die Formel der alkoholischen Gärung unterbringen. Der Lebensmechanismus ist gestört und beginnt auf Einwirkungen zu reagieren, denen gegenüber er sich früher indifferent verhielt: wir sehen, daß das für lebende Zellen indifferente Emulsin auf die Atmung abgetöteter Objekte zu wirken beginnt und dazu noch in deutlich stimulierender Weise.

Worin der Mechanismus seiner Wirkung besteht, ist unbekannt. Es läßt sich nur seine charakteristische Eigentümlichkeit hervorheben.

Die ersten 3—4 Stunden legt es diese Tätigkeit noch nicht an den Tag: alle drei Portionen scheiden auffallend übereinstimmende Mengen von CO_2 aus. Durch diese Tatsache überrascht, richtete ich bei Durchsicht der Literatur meine Aufmerksamkeit unwillkürlich auf die Versuchsergebnisse von W. Palladin. Bei dessen Versuchen gibt *Vicia Faba* nach dem Gefrieren, im Verlaufe der ersten 2—4 Stunden im Wasserstoff und in der Luft die gleichen Mengen von CO_2 und erst nach Ablauf von 2—4 Stunden läßt sich ein Unterschied zugunsten der Sauerstoffportion konstatieren[1]). Hieraus geht hervor, daß auch in Gegenwart von Sauerstoff nach dem Gefrieren anfangs eine ausschließlch anaërobe Atmung vor sich geht[2]). Die weiteren Analysen von W. Palladin haben ergeben, daß auch diese Zeit über Sauerstoff immerhin aufgenommen wird, daß aber seine Aufnahme von keiner Ausscheidung entsprechender Quantitäten von CO_2 begleitet wird[3]).

Geht man von einem Atmungsschema aus, wie es zum Beispiel von Kostytschew[4]) vorgeschlagcn wurde, so wird man vielleicht darauf schließen können, daß während dieser ersten Stunden der Assimilation von Sauerstoff eine Bildung von primären Superoxyden (Oxygenasen) vor sich geht. Was die Peroxydase betrifft, so übt sie während dieser ersten Stunden aus irgend welchen Gründen keine Wirkung aus, sei es wegen Abwesenheit des Materials, gegen welches ihre Energie gerichtet ist (d. h. eben dieser Oxygenasen), oder infolge ihres eigenen Beharrungsvermögens. Von diesen beiden Annahmen ist die erste die wahrscheinlichere. Geht man von solchen Annahmen aus, so wird man den Schluß ziehen können, daß das Emulsin seine Wirkung in keiner Weise offenbart, solange die Peroxydase untätig verharrt. Sobald sich jedoch den früheren Faktoren des Atmungs-

---

[1]) W. Palladin, Zeitschrift f. physiol. Chem., **47**, 414, 1906. Versuch 2.

[2]) Ibid. **47**, 415, 1906. Schlußfolgerung 1.

[3]) Ibid., **47**, 420—421, 1906, vierter Versuch und dessen Schlußfolgerungen.

[4]) Kostytschew, S., Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Atmung der Pflanzen. Jurjev 1910, S. 132 (russisch).

prozesses auch noch die Peroxydase anschließt, wird die Atmungskurve durch das Emulsin sofort und mit genügender Schärfe erhöht. In den lebenden Objekten war die Peroxydase natürlich ebenfalls in Tätigkeit; ja sogar wahrscheinlich in noch intensiverer, und doch war dort die Wirkung des Emulsins gleich Null. Augenscheinlich ist eine besondere Kombination von Atmungsfaktoren notwendig, um einer positiven Wirkung des Emulsins Raum zu schaffen, und diese Kombination wird nur bei jener rätselhaften Umwälzung verwirklicht, welche im Innern der Pflanzenzellen bei ihrem Übertritt in den abgetöteten Zustand vor sich geht. Auf Grund der angeführten Versuche und Betrachtungen wird man demnach mit einem gewissen Grade von Wahrscheinlichkeit nachstehende Grundsätze bezüglich der Wirkung des verkäuflichen Emulsins aufstellen können:

1. Bei allen meinen Versuchen hat das Emulsin keinerlei Unterschied in seiner Wirkung offenbart, einerlei ob es nicht gekocht oder aufgekocht wurde.

2. Dieser Umstand macht es unmöglich, die von ihm offenbarten Wirkungen den fermentativen Eigenschaften des Präparates zuzuschreiben.

3. Das Emulsinpräparat wirkt in entschieden schädlicher Weise auf die isoliert von der Sauerstoffatmung (im Hefanol) verlaufende alkoholische Gärung.

4. Auf die Sauerstoffatmung (auf die Peroxydase?) wirkt das Emulsinpräparat in denjenigen Fällen, wo sie unter anormalen Bedingungen, d. h. in abgetöteten Objekten, verläuft, in deutlich stimulierender Weise.

5. Obwohl das verkäufliche Emulsin in so entgegengesetzter Richtung auf die äußersten Etappen des Atmungsprozesses wirkt, übt es doch keinerlei Wirkung auf den normalen Typus der Atmung der lebenden höher stehenden Pflanze (*Vicia Faba*) aus.

Zum Schluß halte ich es für meine Pflicht, den Herren Professor W. Palladin, unter dessen allgemeiner Leitung diese Arbeit ausgeführt wurde, und Privatdozent A. Richter, der mir stets durch liebenswürdige Ratschläge in bezug auf die anzustellenden Versuche entgegenkam, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

Beiträge zur Mykologie.

Von Prof. Dr. **Franz v. Höhnel.**

I. Über die Berechtigung der Gattungen Cystotheca und Thyrococcum.

1. *Cystotheca Wrightii* wurde von Berkeley und Curtis in „Charakters of new Fungi, collected in the North Pacific Exploring Expedition, by Charles Wright“ (Proceeding American Academ., Boston, IV., 1857—1860 p. 130, Nr. 172) beschrieben, welche Arbeit mir leider unzugänglich war. Nach den Angaben von Saccardo[1]), ist der Pilz ganz unvollständig beschrieben worden und als seine Heimat nur ganz allgemein die nördliche Region des Stillen Ozeans angegeben. Ich[2]) konnte jedoch an dem Original-Exemplare aus dem Herbarium in Kew feststellen, daß der Pilz 1853—56 auf den Lutschu-Inseln in Japan gesammelt wurde und auf seegrünen, lanzettlichen Blättern einer Eiche, wahrscheinlich *Quercus acuta* Thunb. wächst.

Die systematische Stellung der Gattung *Cystotheca* blieb lange sehr zweifelhaft. Saccardo stellte sie a. a. O. zu den Perisporiaceen. In Engler-Prantl, Natürl. Pflanzenfam. I, 1, p. 338, wird *Cystotheca* als zweifelhafte Gattung im Anhange bei den Perisporiaceen erwähnt.

Kusano fand nun 1897 im botanischen Garten von Tokyo (Japan) auf lebenden Blättern von *Quercus acuta* Thunb. einen Pilz, der von P. Hennings genauer beschrieben wurde und von dem er sagt, daß er bestimmt zur *Cystotheca Wrightii* gehören dürfte. Er[3]) stellte für denselben die neue Familie der Cystothecaceen auf, die er den Perisporiaceen anreihte.

Auf Grund dieser Henningsschen Beschreibung habe ich[4]) schon 1907 die Angabe gemacht, daß *Cystotheca Wrightii* unzweifelhaft eine *Sphaerotheca lanestris* Harkn. zum mindesten nahe verwandte Form ist, und daß mithin die Gattung *Cystotheca* mit *Sphaerotheca* zusammenfällt. *Cystotheca* ist daher eine Erisyphee und die Aufstellung der Familie der Cystothecaceen ist eine irrtümliche.

[1]) Saccardo, Syllog. Fungor. I. p. 72.

[2]) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykol. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, math. nat. Kl., 1909, IX. Mitt. Nr. 411.

[3]) Hennings in Englers' Jahrb. f. System., 1901, Bd. 28, p. 273.

[4]) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykol. IV. Mitt. Nr. 168, 1907.

Diese meine Angaben wurden durch die Untersuchung des Original-Exemplares von *Cystotheca Wrightii* aus dem Herbarium in Kew, die ich 1909 vornahm, völlig bestätigt [1]). Ich nannte nun den Pilz *Sphaerotheca Wrightii* (Berk. et Curt.) v. H. und machte hierbei die Bemerkung, daß man die Gattung *Cystothea* für jene *Sphaerotheca*-Arten reservieren könnte, deren innere Perithecien-Membranschichte den Ascus sackartig einschließt.

Saccardo [2]) beschrieb 1910 einen Pilz aus Mexico als *Cystotheca Wrightii*, und gab an, daß der Ascus mit zahlreichen polyedrischen Sporen dicht ausgefüllt ist. Ich machte ihn aber brieflich darauf aufmerksam, daß es sich hier um einen ganz anderen Pilz handeln müsse und er fand nun bei der vorgenommenen genaueren Nachuntersuchung, daß *Sphaerotheca lanestris* Harkn. vorlag. Er hatte die eigentlichen Sporen (8 an der Zahl) nicht gesehen, und die sackartige Hülle des Ascus für den Sporeninhalt angesehen. Saccardo stellte nun *Sphaerotheca lanestris* sowie auch *Sphaeroth. phytoptophila* K. et Sw. in die Gattung *Cystotheca* und hielt diese somit aufrecht. Er [3]) zieht also alle jene *Sphaerotheca*-Arten, deren innere Perithecien-Membranschichte den (einzigen) Ascus sackartig umschließt, zu *Cystotheca*.

Dieser Vorgang ist nun nicht statthaft und zwar aus dem Grunde, weil *Sphaerotheca phytoptophila* eine Form ist, die so nahe mit *Sph. humuli* (D. C.) Burr. verwandt ist, daß sie nach Salmon [4]) von ihr kaum als Art getrennt werden kann. Salmon sagt, daß die einzigen Unterschiede der *Sph. phytoptophila* von *Sph. humuli* die weniger deutliche Zellstruktur der Außenschichte der Perithecien, die etwas geringere mittlere Größe der Perithecien und des Ascus, und die Neigung der Innenlage der Perithecien-Membran, sich von der äußeren abzutrennen, sind.

Salmon hält *Sph. phyptoptophila* im wesentlichen für eine biologische Art, die mit *Sph. humuli* sehr nahe verwandt ist. Es ist nun klar, daß man diese biologische Form nicht generisch von der Stammform trennen kann, und daher nicht statthaft *Sph. phytoptophila* zu *Cystotheca* zu stellen, während *Sph. humuli* eine typische *Sphaerotheca* ist. Aber auch der Vorgang, zu *Cystotheca* nur die zwei Arten *Wrightii* und *lanestris* zu stellen, könnte nicht gebilligt werden, weil dann das Hauptmerkmal der Gattung Cystotheca, nämlich das Verhalten der Perithecien-Membran, auch bei einer *Sphaerotheca*-Art vorkäme, und daher kein ausschließendes wäre.

---

[1]) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykol. IX. Mitt. Nr. 411, 1909.

[2]) Saccardo, Annal. mycol. VIII, 1910, p. 243.

[3]) Saccardo, Annal. mycol. IX, 1911, p. 249.

[4]) Salmon, Monograph of the Erysiphac. 1900, p. 77.

Abgesehen von diesen Tatsachen scheint mir auch die Ablösung der Innenschichte der Perithecien-Membran keinen generischen Wert zu besitzen, um so weniger, als die betreffenden Arten sonst keine Besonderheiten aufweisen, die eine Abtrennung derselben von *Sphaerotheca* rechtfertigen könnten. In diesem Sinne ist auch Salmon in seiner ausgezeichneten Monographie der Erysipheen vorgegangen.

Die Gattung *Cystotheca* Berk. et Curt. muß daher als einfaches Synonym von *Sphaerotheca* Lév. angesehen werden.

Noch sei bemerkt, daß *Sph. lanestris* Harkn. und *Sp. Wrightii* (B. et C.) zwei gut voneinander verschiedene Arten sind. (Siehe dagegen Saccardos Bemerkung in Ann. mycol. 1911, IX. S. 249.) Es geht dies schon aus dem Vergleich der Beschreibungen beider Pilze von Salmon und Hennings aufs klarste hervor. Trotzdem das von mir verglichene Original-Exemplar der *Cystotheca Wrightii* unreif ist, konnte ich doch sicherstellen, daß diese eine von *Sph. lanestris* völlig verschiedene Art darstellt.

2. *Thyrococcum punctiforme* Sacc. wurde ursprünglich als Hyphomycet unter dem Namen *Stemphylium (Thyrococcum) punctiforme* Sacc.[1]) beschrieben. Der Autor bemerkte aber, daß der Pilz von der Gattung *Stemphylium* dadurch abweicht, daß die Hyphen und Conidien ein festes Sporodochium bilden und derselbe daher besser in eine eigene Gattung *(Thyrococcum)* zu versetzen ist, die zu den Tubercularieae-dematieae nächst *Spegazzinia* zu stellen ist, und fast den Habitus von *Epicoccum* hat. Im Vertrauen auf die Richtigkeit dieser Angaben habe ich[2]) schon 1902 ausgesprochen, daß zu *Thyrococcum* alle jene *Epicoccum*-Arten gestellt werden müssen, welche dictyospore Sporen haben. Ferner habe ich[3]) 1907 gefunden, daß *Steganosporium compactum* Sacc. keine Melanconiee ist, sondern eine Tuberculariee, die *Thyrococcum compactum* (Sacc.) v. H. genannt wurde. Später hat dann noch Bubák[4]) zwei ganz ähnliche Pilze auf *Morus*-Zweigen zu *Thyrococcum* gestellt. Ferner stellte noch Buchanan[5]) eine *Thyrococcum*-Art auf. Da ich seither gefunden hatte, daß die Angaben in der speziellen Mykologie durchaus nicht jenes Vertrauen verdienen, das ihnen gewöhnlich geschenkt wird, habe ich[6]) das Original-Exemplar von *Thyrococcum punctiforme* Sacc. genau untersucht

---

[1]) Saccardos, Sylloge Fung. 1892, X, p. 672.
[2]) Fr. v. Höhnel, Fragm. zur Mykologie, I. Mitt. Nr. 63, 1902
[3]) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, III. Mitt. Nr. 155, 1907.
[4]) Bubák, Ber. d. deutschen botan. Gesellsch. Bd. 28, 1910, S. 533.
[5]) Buchanan, Mycologia, III, 1911, p. 1.
[6]) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, XIII. Mitt. Nr. 718, 1911.

und gefunden, daß *Thyrococcum* gar keine Tuberculariee sondern eine Sphaerioidee ist und zur Gattung *Camarosporium* gehört.

Infolgedessen stellte ich die bisher zu *Thyrococcum* versetzten echten Tubercularieen in zwei Gattungen, die ich *Thyrostroma* und *Clathrococcum* nannte.

Thyrococcum ist nach dem Gesagten ein *Camarosporium*. Dasselbe wächst auf den Blättern von *Atriplex Halimus*. Auf Chenopodiaceen sind bisher neun Arten und zwei Varietäten von *Camarosporium* beschrieben worden, die, nach den Beschreibungen zu urteilen, fast alle nahe verwandt sind. Zum Teile mindestens sind sie gewiß nur Formen einer Art. Insbesondere muß als sicher angenommen werden, daß die drei auf *Atriplex*-Arten beschriebenen Formen zusammengehören. Es sind dies *Camarosporium Halimi* Maulb., *C. Roumegueri* Sacc. v. *Halimi* Maire und *C. Atriplicis* Alm. et Souza. In der Tat fand ich an den Original-Exemplaren, daß die zweite Form von *C. punctiforme* Sacc. kaum spezifisch verschieden ist.

Irgend ein wesentlicher Unterschied zwischen *Thyrococcum* und *Camarosporium* ist nicht vorhanden.

Nichtsdestoweniger hat nun jüngst Saccardo[1]) das Bedürfnis gefühlt die Gattung *Thyrococcum* von *Camarosporium* zu trennen, sie somit aufrecht zu erhalten. *Thyrococcum* Sacc. soll im Gegensatze zu *Camarosporium* bald hervorbrechende Pykniden mit einer sehr zarten Wandung und verzweigten Sporenträgern haben.

Die Untersuchung des ganz alten und sehr kümmerlichen Original-Exemplars von *Thyrococcum punctiforme* zeigte mir nun aber nicht hervorbrechende, eingewachsene etwa 200 μ breite rundliche Pykniden mit 15—20 μ dicker, aus stark zusammengepreßten blaßbraunen, polygonalen Parenchymzellen bestehender Membran. Zwischen den kurzen einfachen Sporenträgern waren paraphysenartige längere einfache oder kaum verzweigte Hyphen zu finden, an welchen aufsitzende Sporen nicht zu sehen waren. Auch die Untersuchung eines Original-Exemplares von *Camarosporium Roumegueri* Sacc. v. *Halimi* Maire ergab im wesentlichen dasselbe Resultat, nur daß hier die parenchymatische Struktur der Wandung deutlicher war.

Daraus ergibt sich, daß *Thyrococcum* von *Camarosporium* nicht wesentlich verschieden ist. Weder ist die Pyknidenmembran auffallend dünn, noch können die Sporenträger als verzweigt bezeichnet werden.

---

[1]) Saccardo, Annal. mycol. IX, 1911, p. 253.

Untersuchungen über die säurelabbildenden Kokken des Käses[1])

(Micrococcus casei acidoproteolyticus I und II).

Von Prof. D. **Costantino Gorini**
Direktor des bakteriologischen Laboratoriums an der Kgl. landw. Hochschule zu Mailand.

(Mit einer Abbildung.)

Wie ich in einer Reihe von Arbeiten (1) dargelegt habe, bin ich durch meine Untersuchungen instand gesetzt worden, festzustellen, daß die grundlegende Flora des Granakäses (Parmesankäse) und anderer Hartkäse (Emmentaler-, Edamer- u. a. Käse) aus zwei Bakteriengruppen besteht, nämlich: 1. aus den eigentlichen Milchsäurebakterien, 2. aus den säurelabbildenden Bakterien. Ich halte es nicht für überflüssig, daran zu erinnern, daß unter eigentlichen Milchsäurebakterien die Bakterien zu verstehen sind, die die Milch mit saurer Reaktion, ohne Gasbildung und ohne weiterhin erfolgende Peptonisierung koagulieren.

Auf diese Weise habe ich meine früher aufgestellte Hypothese (2) über diese zweite Bakteriengruppe näher begründen und gegenüber der ausschließlichen Anerkennung der Milchsäurebakterien eine umfassendere Theorie zum Ausdruck bringen können, nach welcher an der Reifung der Hartkäse die beiden oben erwähnten Bakteriengruppen Anteil haben.

Unter den säurelabbildenden Bakterien, die ich in den Käsen nachgewiesen habe, befinden sich auch verschiedene Typen von Kokken.

Freudenreich und seine Schüler, die Vertreter der Theorie der Milchsäurebakterien, wenn sie mir auch zum Teil recht gegeben haben, indem sie die beständige Gegenwart von säurelaberzeugenden Kokken in Emmentalerkäse anerkannten, hatten diesen niemals die Rolle zugestehen wollen, die ihnen nach meiner Ansicht neben den Milchsäurebakterien zukommt. Es wird genügen, wenn ich aus der Zahl jener Autoren Orla Jensen zitiere, welcher in seinem Nachruf auf den ver-

[1]) Diese Arbeit wurde in der „Reale Accademia dei Lincei" vorgetragen (Rendiconti della R. Acc. Lincei — Vol. XIX, fasc. 3; p. 150—158, Roma). —

storbenen Freudenreich bei dieser seiner Ansicht bleibt, daß die Mitwirkung der säurelaberzeugenden Kokken beim Reifen des Emmentalerkäses höchstens eine durch Bedingungen eingeschränkte ist, die nur „unter Umständen“ eintritt (3).

Erst in der neuesten Zeit hat ein früherer Schüler Freudenreichs, Dr. Thöni (4), indem er die Untersuchungen seines Lehrers unter Leitung von Prof. Burri wieder aufnahm, ohne Einschränkungen in einer schätzenswerten Arbeit erklärt, daß „die grundlegende Flora des Emmentalerkäses aus Milchsäurebakterien und aus Kokken“ (welches die oben erwähnten säurelaberzeugenden Kokken sind) „besteht“.

Ich lege Wert darauf, hervorzuheben, daß Thöni zu dieser Schlußfolgerung auf Grund der Analyse von Käsen gelangt ist, die in normaler Größe und nach den gewöhnlichen Methoden hergestellt waren, denn, sagt Thöni, in den nach verkleinertem Maßstabe hergestellten Versuchskäsen ist die Menge der Kokken viel geringer. Dieses Ergebnis würde damit in Widerspruch stehen, was Orla Jensen (3) früher wahrgenommen hatte, nach welchem Autor solche Kokken in den kleinen Emmentalerkäsen reichlicher vorhanden sind, als in den großen. Wie dem auch sein mag, ich möchte bei dieser Gelegenheit die notwendige Forderung, auf die ich wiederholt hingewiesen habe, bekräftigen, daß Verkäsungsversuche, damit sie vollgültige Schlußfolgerungen für die Praxis ergeben, nach dem normalen Maßstabe und unter den normalen Verhältnissen der Fabrikation ausgeführt werden müssen.

Eine andere Arbeit, die vor kurzem meinen Untersuchungen eine Stütze gewährt hat, ist die sehr gründliche Abhandlung von Harding und Prucha (5) über den Cheddarkäse. Diese amerikanischen Forscher bestätigen, wie übrigens auch Thöni, dasjenige, was ich seit einiger Zeit nachgewiesen hatte, daß nämlich säurelaberzeugende Kokken sich in den Käsen auch in Perioden einer weit vorgeschrittenen Reifung vorfinden.

Es werde daran erinnert, daß Freudenreich und seine Schule statt dessen behauptete, daß dieselben alsbald in den ersten Tagen der Fabrikation verschwinden[1]).

Es gereicht mir zu aufrichtiger Freude, sagen zu können, daß also in beiden Fällen die neuesten Forschungen der verehrten ausländischen Kollegen den Grundzügen nach mit den meinigen übereinstimmen.

---

[1]) Übrigens, selbst wenn die säurelabbildenden Bakterien in den Käsen bei den fortgeschrittenen Perioden der Reifung nicht mehr am Leben zu finden wären, bleibt aber immer die fortsetzende Wirkung ihrer intra- und extracellulären proteolytischen Enzyme übrig (s. in dieser Beziehung Gorini, Rend. R. Acc. Lincei, Vol. XX, S. 284 bis 288, und Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 32, S. 406).

Nicht völlig finde ich mich mit ihnen in Übereinstimmung über manche Einzelheiten, welche die Diagnose, die Einteilung und die Benennung der in Frage stehenden Bakterien betreffen; deswegen halte ich es für angezeigt, hier kurz die Ergebnisse meiner in dieser Hinsicht angestellten Beobachtungen darzulegen.

I. Diagnose der säurelabbildenden Kokken.

Eine erste Reihe von Beobachtungen betrifft die Methode, die uns zur Erkennung solcher Kokken führen muß.

Im allgemeinen besteht die Gewohnheit, einfach zu beobachten, ob sich in den Plattenkulturen, die von den Käsen angelegt sind, Kokkenkolonien entwickeln, die die Gelatine verflüssigen. Ich bin indessen der Ansicht, daß dies nicht genügt, um sich über die Gegenwart der säurelabbildenden Kokken zu vergewissern.

Dasjenige nämlich, was vor allen Dingen wichtig ist, hinsichtlich der Wirksamkeit dieser Bakterien im Käse festzustellen, ist nicht ihre eiweißlösende oder proteolytische Wirkung auf die Gelatine, sondern ihre proteolytische Wirkung auf das Kasein; es kommt daher darauf an, zu bestimmen: 1. ob sie imstande sind, das Kasein zu peptonisieren, 2. ob sie imstande sind, dasselbe auch in saurer Umgebung zu peptonisieren.

Deshalb habe ich gerade auf der Eigenschaft, das Kasein in sauerer Reaktion anzugreifen, meine Hypothese über die Mitwirkung der säurelabbildenden Bakterien bei der Reifung der Käse gegründet.

Nun steht es fest und ich habe es selbst in meinen Arbeiten nachgewiesen, daß die das Kasein auflösenden Bakterien zugleich die Gelatine verflüssigen. Aber man darf nicht vergessen, daß es gar nicht leicht ist, bei den Kulturen festzustellen, ob die in Frage stehenden Kokken die Gelatine zu verflüssigen vermögen, besonders insofern es sich um die Plattenkulturen handelt, wo sie in Symbiose mit anderen Mikrobenspezies vorhanden sind. Oft kann es übrigens geschehen, daß auch die Kolonien einer und derselben Kokkenspezies, wenn sie sich in einer und derselben Platte im Übermaß vorfinden, einander in der Entwicklung hindern und dadurch zu einem gegenseitigen Hemmnis bei der Produktion des proteolytischen Enzyms werden. Zudem können geringe Schwankungen in der Temperatur, in der Densität, in der Zusammensetzung der Gelatine, wie auch andere, noch unbekannte Ursachen, die verflüssigende Wirksamkeit dieser Kokken stören. Ehe man daher einer gewissen Kokkenspezies diese Fähigkeit aberkennt, muß man eine große Anzahl von Kulturen angelegt haben, indem man dabei auch mit den

Entwicklungsbedingungen wechselt. Alle diese Schwierigkeiten sind um so eher zu verstehen, wenn man bedenkt, daß unter solchen Kokken sich einige befinden, die ein ganz schwaches Verflüssigungsvermögen besitzen, welches sogar einige Tage nötig hat, um sich geltend zu machen; zuweilen ist auch nicht eine wirkliche Verflüssigung, sondern eine schwache Erweichung, eine Verdunstung, eine Aushöhlung der Gelatine rings um die Kokkenkolonie vorhanden.

Damit ist es übrigens noch nicht genug. Ich (6) habe nämlich in einer früheren Arbeit gezeigt, daß es Bakterien gibt, die offenbar unter besonderen dysgenetischen Bedingungen in den Gelatinekulturen keine proteolytische Wirkung zeigen, während sie eine solche in den eugenetischen, in Milch angelegten Kulturen sehr wohl bekunden. Als erstes Beispiel solcher Bakterien habe ich einen winzigen Bacillus nachgewiesen, den ich aus den Milchkanälen eines wegen schlechten Melkens erkrankten Euters isoliert habe. Ich (6) habe diesen unter der Bezeichnung Bacillus minimus mammae näher beschrieben. Bei dieser Gelegenheit bemerkte ich auch, wie das verschiedenartige Verhalten dieser Mikrobe gegenüber der Gelatine und gegenüber dem Kasein mich anfangs veranlaßt habe, an einen spezifischen Charakter ihres proteolytischen Vermögens zu denken; aber ich zeigte ebenfalls, wie ich dazu gelangte, diese Annahme aufzugeben, nachdem ich in ihren in Milch angelegten Kulturen ein peptonisierendes Vermögen auch gegenüber der Gelatine hatte nachweisen können.

Ich machte sodann darauf aufmerksam, daß ich als ein ähnliches Beispiel einen der Typen der säurelaberzeugenden Kokken des Granakäses erkannt hätte. Es handelte sich hier ebenfalls um Kokken, welche, wie der Bacillus minimus mammae sich nur mühsam auf Gelatine, sei es mit Laktose, sei es ohne Laktose, sei es bei niedrigen oder bei höheren Temperaturen, entwickeln; weshalb es leicht erklärlich erscheint, wenn sie in den in Gelatine angelegten Kulturen nicht dazu gelangen, proteolytische Enzyme zu erzeugen. Wenn sie hingegen in Milch kultiviert werden und zwar unter Bedingungen, die ein Optimum der Entwicklung gewähren, so daß sie dazu gelangen, das Kasein zu peptonisieren, so läßt sich feststellen, daß ihre Produkte auch die Fähigkeit besitzen, die Gelatine zu peptonisieren.

Alles dieses dient dazu, zu beweisen, daß man zur Diagnose der säurelaberzeugenden Kokken der Käse mehr auf ihr proteolytisches Vermögen gegenüber dem Kasein als auf ihr proteolytisches Vermögen gegenüber der Gelatine achten muß.

Natürlich darf man nicht glauben, daß die verflüssigende Fähigkeit gegenüber dem Kasein immer schnell nachzuweisen sei; es fehlt nicht an Beispielen, daß gewisse Kokken diese ihre Eigenschaft in den in Milch angelegten Kulturen nur mühsam entfalten, ja dieselbe mit einer gewissen Unregelmäßigkeit je nach der Inkubationstemperatur, dem Alter der Kultur usw. an den Tag legen. Es wird daher gut sein, auch hier sich nicht damit zu begnügen, nach einigen wenigen Kulturen zu urteilen, sondern mehrere zu beobachten, die man verschiedenartigen Entwicklungsbedingungen aussetzt. Indessen machen sich die Schwankungen in der Erzeugung des proteolytischen Enzyms in Milch viel weniger bemerkbar, als in Gelatine, offenbar weil die Milch das medium optimum der Lebensbedingungen dieser Art von Bakterien bildet.

II. Unterscheidung der verschiedenen Typen der säurelabbildenden Kokken.

Eine zweite Beobachtungsreihe betrifft die Unterscheidung der verschiedenen Typen der säurelaberzeugenden Kokken, die sich in den Käsen vorfinden.

Auch diese Aufgabe ist nicht leicht zu lösen. Zum Beweise dient, daß die Ansichten der Autoren weit auseinandergehen. Freudenreich und Orla Jensen (7) nehmen im Emmentalerkäse eine einzige Art solcher Kokken an, welche sie Micrococcus casei liquefaciens nennen; Harding und Prucha (5) hingegen unterscheiden beim Cheddarkäse vier Spezies mit sechs Unterspezies, welche sie nennen: M. lactis albidus (2 Gruppen), M. lactis giganteus, M. lactis varians (4 Gruppen) und M. lactis brevis. Thöni (4) gibt nicht die Anzahl der im Emmentalerkäse vorgefundenen Spezies an; aus seiner Darstellung ist aber zu entnehmen, daß sicherlich mehr als eine vorhanden ist.

Meinerseits habe ich, wie von mir schon in einer früheren Arbeit angedeutet worden ist, mehrere Varietäten von säurelabbildenden Kokken sowohl im Parmesan-, als auch im Emmentaler- und im Edamerkäse vorgefunden; aber die angestellten Untersuchungen gestatten mir nicht, sie unter eine einzige Spezies zu vereinigen, noch in eine bestimmte Anzahl sicher gekennzeichneter Spezies einzuordnen.

Da es sich immer um kokkenförmige Bakterien handelt, welche die säuernde und die proteolytische Eigenschaft in bezug auf Milch gemeinsam haben, so sind die Kennzeichen, nach denen die Autoren ihre Unterscheidungen begründen, entweder von den individuellen Dimen-

sionen, oder von der Form, von der Struktur, von der Farbe ihrer Kolonien entnommen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß diese Eigentümlichkeiten beachtenswerte Unterscheidungsmerkmale bieten; wenn man aber mit allen diesen Unterschieden rechnen wollte, so müßte man zu viele Spezies aufstellen; andererseits sind einige solcher Eigentümlichkeiten zu unbeständig, um als Kennzeichen einer Spezies angenommen zu werden; höchstens könnten sie dazu dienen, Varietäten zu bestimmen. Bei so vielen Schwierigkeiten hinsichtlich der Einteilung ziehe ich es vor, auf eine zu weitgehende Untereinteilung in Typen, bei welcher nicht hinreichend bestimmte Typen aufzustellen wären, zu verzichten, und beschränke mich darauf, wenigstens für jetzt, die verschiedenen Typen nach Maßgabe ihres Verhaltens in Reinkulturen in gewöhnlicher mit Laktose versetzter Gelatine zu gruppieren.

Ich sage in Reinkulturen, um die gemischten Kulturen auf den Platten auszuschließen, denn, wie ich schon bemerkte, kann hier das Verhalten der säurelaberzeugenden Kokken durch die Symbiose mit anderen Bakterienarten abgeändert sein.

Ich sage in gewöhnlicher, mit Laktose versetzter Gelatine, worunter die Kochsche Gelatine mit 2proz. Laktose zu verstehen ist, um jene anderen Arten von Gelatine mit Milchmolken, mit Milch usw. auszuschließen, deren Herstellung eine zu mannigfaltige und deren Zusammensetzung so wenig feststehend ist, je nachdem die Autoren eine solche Gelatine herrichten lassen.

Infolge meiner Versuche habe ich feststellen können, daß sich auf diese Weise zwei Gruppen von säurelabbildenden Kokken aufstellen lassen; denn es sind Kokken vorhanden, die sich reichlich in Gelatine entwickeln und dieselbe verflüssigen, während sich andere Kokken vorfinden, die sich in Gelatine spärlich entwickeln und dieselbe nicht verflüssigen. Die beiden Gruppen wären also zu bestimmen: Die eine als eine Gruppe von säurelabbildenden Kokken, die die Gelatine verflüssigen, die andere als eine Gruppe von säurelabbildenden Kokken, die die Gelatine durch ihre Kulturen nicht verflüssigen. Übrigens ist hier gleich hinzuzufügen, daß wenn diese zweite Gruppe nicht imstande ist, die Gelatine durch die Kulturen zu verflüssigen, sie aber wohl durch die in Milch angelegten Kulturen ein Enzym zu erzeugen vermag, welches nicht allein für Kasein, sondern auch für Gelatine proteolytisch ist.

Es ist also eine physiologische Gruppierung dieser Kokken, die ich hier in Vorschlag bringe.

Natürlich kann, wenn man eine solche physiologische Gruppierung der säurelabbildenden Kokken der Käse vornimmt, weder auf ihre Dimension, noch auf andere morphologische Eigenheiten Rücksicht genommen werden.

Ohne nun die Möglichkeit auszuschließen, daß Kokken von verschiedenen Formen und Dimensionen sich sowohl in der einen wie der anderen Gruppe vorfinden, halte ich es dennoch für angebracht, hier die Abbildungen der beiden Kokkentypen darzubieten, die, wie ich bei



Fig. 1.

Links Micrococcus acido-proteolyticus I, rechts Micrococcus acido-proteolyticus II. (Vergrößerung 1000fach.)

meinen Untersuchungen gefunden habe, die oben genannten Gruppen am häufigsten vertreten. Die Hauptmerkmale, nach denen sich diese beiden Typen voneinander unterscheiden, lassen sich aus folgenden Resultaten zahlreicher vergleichender Kulturen entnehmen:

a) Dimensionen und Form der Kokken. Typus I (Fig. 1, linke Seite) hat einen mittleren Durchmesser von mehr als 2 μ; Typus II (Fig. 1, rechte Seite) hat einen Durchmesser von kaum 1 μ. Typus I ist vorwiegend von runder Form und nimmt oft die Gestalt von kaffeebohnenförmigen Diplokokken an; Typus II ist vorwiegend von ovaler, zuweilen auch von lanzettlicher Form. Beide färben sich mit Anilinfarben und auch nach Gram.

b) Entwicklung in künstlichen Nährböden (Gelatine, Agar, Bouillon). Beide entwickeln sich zwischen 20 und 37° C und zwar in einer Zeit, die zwischen 18 und 28 Stunden schwankt, je nach der Inkubationstemperatur. Typus I hat jedoch stets eine reichliche Entwicklung, während Typus II eine schwache Entwicklung hat, und eine größere Vorliebe für erhöhte Temperaturen zeigt.

c) Kolonien in mit Laktose versetzter Gelatine (2 Proz.). Beide bilden rundliche Kolonien von gelber, mehr oder weniger intensiver, zuweilen auch von weißlicher Farbe, offenbar je nach der größeren oder geringeren Dichtigkeit der Anhäufung. Die Kolonien des Typus I erlangen einen Durchmesser von 1—2 mm und verflüssigen die Gelatine, während die Kolonien des Typus II kaum $^1/_2$ mm, selbst nach Verlauf von 10—15 Tagen, erreichen und die Gelatine nicht verflüssigen.

d) Verhalten in mit Laktose versetzter Bouillon (2 %). Typus I trübt weithin die Bouillon; Typus II läßt sie klar und sammelt sich gänzlich am Boden des Probierröhrchens an, während hin und wieder ein Krümchen schwebend bleibt.

e) Verhalten in Milch. Beide koagulieren die Milch zwischen 25 und 37° C, und zwar in 18—22 Stunden, mit saurer Reaktion und lösen sie dann immer in zunehmender sauerer Reaktion wieder auf (sie peptonisieren dieselbe); ein beachtenswerter Unterschied ist der, daß die von Typus II gelieferten Molken immer saurer, klarer und weniger gelb sind als die von Typus I unter denselben Entwicklungsbedingungen hervorgerufenen Molken.

III. Benennung der säurelabbildenden Kokken.

Eine dritte Beobachtungsreihe betrifft die Benennung solcher Kokken. Auch hier herrscht unter den Autoren keine Übereinstimmung. Thöni (4) befaßt sich gar nicht damit, den von ihm im Emmentalerkäse gefundenen Kokken Namen zu geben. Harding und Prucha (5) teilen, wie wir gesehen haben, ihren verschiedenen Kokkenarten und -Unterarten verschiedene Namen zu, bei welchen nur Rücksicht auf die morphologischen Eigenschaften genommen wird. Da wir nun die Kokken nach physiologischen Merkmalen gruppiert haben, so können wir eine derartige Benennung uns nicht zu eigen machen. Freudenreich und Orla Jensen (7) haben ihre einheitlichen Spezies mit dem Namen „Micrococcus casei liquefaciens“ bezeichnet. Diese Benennung, die den Vorzug haben würde, auf physiologischen Eigentümlichkeiten zu beruhen, scheint mir ungeeignet und unzureichend und zwar aus

zwei Gründen, nämlich: a) weil die Bedeutung, die diese Kokken hinsichtlich des Käses haben, nicht in ihrem Verflüssigungsvermögen gegenüber der Gelatine, sondern in ihrem peptonisierenden Vermögen gegenüber dem Kasein liegt, b) weil man mit jener Benennung sich der Möglichkeit aussetzt, diejenigen Kokken auszuschließen, die, wenn sie auch proteolytische Eigenschaften besitzen, dennoch aus den oben dargelegten Gründen kein Verflüssigungsvermögen in den in Gelatine angelegten Kulturen bekunden.

Ich ziehe daher vor, eine Benennung zu wählen, in der das proteolytische Vermögen dieser Kokken in allgemeinen Ausdrücken und nicht ausschließlich in bezug auf die Gelatine angezeigt wird, eine Benennung, bei der auch die andere, sehr wichtige Eigenheit dieser Kokken, nämlich die, das Kasein in saurer Umgebung zu peptonisieren, in Betracht gezogen wird. Allen diesen Anforderungen scheint mir am ehesten zu entsprechen der Name Micrococcus casei acido-proteolyticus; ich bringe diesen also in Vorschlag, um im ganzen die säurelaberzeugenden Kokken des Käses zu bezeichnen. Diesem Namen sind dann noch einige Zahlenbezeichnungen zuzufügen nach der Anzahl der Typen oder Arten, die man annehmen will. Ich meinerseits beginne damit, die ersten beiden Zahlen anzuwenden, um die beiden oben genannten Gruppen zu bezeichnen.

Ich nenne also M. casei acido-proteolyticus I diejenige Gruppe von säurelaberzeugenden Kokken des Käses, die in den in Gelatine angelegten Kulturen sich gut entwickeln und in denselben ihr proteolytisches Vermögen bekunden.

Ich nenne M. casei acido-proteolyticus II diejenige Gruppe von säurelaberzeugenden Kokken des Käses, die in den in Gelatine angelegten Kulturen sich mühsam entwickeln und in denselben ihr proteolytisches Vermögen nicht bekunden.

Zusammenfassung.

1. Die vor kurzem von verschiedenen Autoren ausgeführten Untersuchungen nach dem Mikrobengehalt von Hartkäsen (Emmentaler-, Cheddarkäsen) erkennen den säurelabbildenden Bakterien die wichtige Rolle zu, die ich ihnen seit einiger Zeit unter den Reifungsagentien neben den Milchsäurebakterien zugeschrieben habe.

2. Die Diagnose der säurelabbildenden Kokken der Käse muß sich stützen nicht auf ihr Verflüssigungsvermögen in den in Gelatine angelegten Kulturen, sondern auf ihr peptonisierendes Vermögen in den in Milch angelegten Kulturen. Dies muß geschehen aus folgenden Gründen:

a) Das Moment, auf dessen Feststellung es eigentlich ankommt, ist gerade die Fähigkeit dieser Kokken, das Kasein auch in saurer Umgebung anzugreifen, und nicht so sehr die Gelatine zu verflüssigen; b) die Erzeugung des proteolytischen Enzyms seitens dieser Kokken in den in Gelatine angelegten Kulturen ist nicht mit Sicherheit festzustellen, weil dieselbe manchen Schwankungen und Unregelmäßigkeiten unterworfen ist, die viel zahlreicher und unbeständiger sind als bei in Milch angelegten Kulturen; c) unter diesen Kokken gibt es Typen, die, wahrscheinlich wegen besonderer dysgenetischer Bedingungen in der Gelatine, ihr proteolytisches Vermögen in den in Gelatine angelegten Kulturen nicht bekunden, während sie durch die in Milch angelegten Kulturen ein Enzym ausscheiden, welches proteolytische Eigenschaften auch gegenüber der Gelatine besitzt.

3. Die Unterscheidung der verschiedenen Typen säurelaberzeugender Kokken, die sich in den Käsen vorfinden, ist nicht sehr leicht und zwar wegen der Unbeständigkeit einiger ihrer Merkmale. Um sowohl eine zu weitgehende Untereinteilung in Typen, als auch die Annahme von nicht sicher genug bestimmten Typen zu vermeiden, ist es ratsam (wenigstens für jetzt), sie in zwei physiologische Gruppen auf Grund ihres verschiedenartigen Verhaltens in den in Gelatine angelegten Kulturen zu vereinigen; nämlich in eine erste Gruppe, welche aus den Kokken gebildet wird, die in den in Gelatine angelegten Kulturen sich gut entwickeln und in denselben ihr proteolytisches Vermögen bekunden, und in eine zweite Gruppe, welche aus den Kokken gebildet wird, die in den in Gelatine angelegten Kulturen sich mühsam entwickeln und in denselben ihr proteolytisches Vermögen nicht bekunden.

4. Die Benennung, die sich am besten eignet, um im ganzen alle Typen von säurelaberzeugenden Kokken, die sich im Käse vorfinden, zu bezeichnen, ist diejenige, in welcher ihre proteolytische Fähigkeit vom allgemeinen Standpunkte aus und nicht mit einfacher Beziehung zur Gelatine betrachtet wird, und in welcher außerdem die ihnen eigene Fähigkeit, die besonders in bezug auf das Reifen des Käses von Wichtigkeit ist (die Peptonisierung des Kaseins auch in saurer Umgebung), zum Ausdruck kommt.

Als Kollektivbezeichnnung, die diesen Anforderungen entspricht, schlage ich diese vor: Micrococcus casei acido-proteolyticus und stelle folgende zwei Gruppen auf:

a) M. casei acido-proteolyticus I, d. i. die Gruppe der säurelabbildenden Kokken, die ihre proteolytischen Eigenschaften auch in den in Gelatine angelegten Kulturen bekunden;

b) M. casei acido-proteolyticus II, d. i. die Gruppe der säurelabbildenden Kokken, die ihre proteolytischen Eigenschaften in den in Gelatine angelegten Kulturen nicht bekunden.

5. Die von mir nachgewiesene Tatsache, daß in der Gruppe der säurelabbildenden proteolytischen Bakterien sich einige vorfinden, die nicht imstande sind, ihre proteolytische Fähigkeit in den in Gelatine angelegten Kulturen zu bekunden, führt zu der Annahme, daß das Vorhandensein einer solchen Bakteriengruppe im Käse umfangreicher und wirkungsvoller sein muß, als sich aus der gewöhnlichen bakteriologischen Untersuchung der Käse schließen läßt, die man mittels der gewöhnlichen, mit Gelatine angelegten Platten ausführt.

Bibliographie.

1) Gorini, Verschiedene Arbeiten, die später in den beiden folgenden zusammengefaßt sind: Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e lett. 1904, 37, p. 939 und Rend. R. Acc. Lincei, 1905, XIV, 2 sem.

2) Gorini, Giornale della R. Societa Italiana d'Igiene, 1904, XVI n. 4.

3) Orla Jensen, D. Eduard von Freudenreich (1852—1906). Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1906.

4) Thöni, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora von nach Emmentaler Art bereiteten Käsen. Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1909.

5) Harding und Prucha, The Bacterial Flora of Cheddar Cheese. Technical Bulletin, n. 8 of the New-York Agricultural Experiment Station. Geneva N. Y., December 1908.

6) Gorini, Il Bacillus minimus mammae. Rendiconti R. Ist. Lomb. Sc. e lett. 1907, p. 947 und 1908, p. 122. Siehe auch Revue générale du Lait, 1907, VI, n. 24. Refer. Milchw. Zentralblatt 1908, Heft 3, S. 141.

7) Freudenreich und Orla Jensen, Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1904.

Die Zersetzung von Harnstoff, Harnsäure, Hippursäure und Glykokoll durch Schimmelpilze.

Von **Alexander Kossowicz.**

Über die spontane Zersetzung von Harnstofflösungen durch Schimmelpilze liegen Angaben von P. Miquel (1), von O. Semal (2) und K. Shibata (3), über das Verhalten von Citromyces siderophilus zu Harnstoff von R. Lieske (4) in der Literatur vor. St. Bierema (5) hat die Zersetzung von Harnsäure durch Penicillium glaucum unter Bildung von Ammoniak beobachtet, während Shibata (3) mit dem aus Aspergilluszuchten gewonnenen Enzymgemische keinen Abbau der Harnsäure bewirken konnte. Über die Zersetzung der Hippursäure durch Aspergillus niger hat Shibata (3) berichtet. Ebenso konnte St. Bierema in mit Erdproben versetzten Hippursäurelösungen Schimmelpilzwachstum bemerken. Er isolierte auch zwei zur Hippursäureassimilation befähigte Pilze. Der eine steht dem Cordiceps militaris nahe, der zweite erwies sich als wahrscheinlich identisch mit Septosporium bifurcum Fres. Nach D. Carbone und M. Rusconi (6) zersetzen Aspergillus niger und ein Penicillium Hippursäure unter Benzoesäurebildung.

In meinen Versuchen kamen kleine Erlenmeyerkölbchen zur Anwendung, die mit je 50 ccm der unten angeführten Nährlösungen beschickt, sterilisiert und mit den nachfolgenden, auf sterilisierten Kartoffelstreifen herangezüchteten Pilzen (Reinkulturen) beimpft wurden: Botrytis bassiana, Penicillium crustaceum, Mucor Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa, und einem Fusisporium (aus dem Stengel einer blattrollkranken Kartoffelpflanze isoliert, mit rötlichem Myzel).

Zur Kontrolle wurde jeder der eben genannten Pilze auch zugleich in eine stickstofffreie Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm

Leitungswasser, 25 g Handelsraffinade, 2,5 g K_2HPO_4 und 0,5 g $MgSO_4$ und in eine Nährlösung, die überdies 4 g NH_4Cl enthielt, eingebracht. In der ersten, stickstofffreien Nährlösung zeigte nur Aspergillus niger, der ja bekanntlich auch zur Assimilation des freien Luftstickstoffs befähigt ist, eine schwache Entwicklung, in der zweiten Nährlösung, die Ammoniumchlorid enthielt, gediehen sämtliche Pilze recht gut. Gleichzeitig mit jedem der unten angeführten Versuche wurden noch zwei gleichartige Parallelversuche ausgeführt, um das notwendige Material zur mikroskopischen Untersuchung und zu den qualitativen Prüfungen auf Ammoniak mit dem Neßlerschen Reagens und mit Platinchlorid zu erhalten. Die quantitative Prüfung auf Ammoniak wurde durch Destillation in titrierte $\frac{n}{10}$ Salzsäure ausgeführt.

Zersetzung von Harnstoff: In einer Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm Leitungswasser, 10 g Harnstoff, 25 g Handelsraffinade, 2,5 g K_2HPO_4 und 0,5 g $MgSO_4$ zeigten alle oben genannten Pilze kräftige Entwicklung und Ammoniakbildung. Mucor Boidin wuchs untergetaucht mit weißem Mycel und rief in dieser ebenso wie in der Harnsäure- und Hippursäurelösung außer Ammoniakbildung auch alkoholische Gärung hervor. Die eingangs erwähnten Pilze erwiesen sich also befähigt Harnstoff als alleinige Stickstoffquelle unter Ammoniakbildung auszunützen.

Zersetzung von Harnsäure: In einer Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm Leitungswasser, 4 g Harnsäure (die jedem Erlenmeyerkölbchen in der entsprechenden Menge getrennt zugewogen wurde), 25 g Handelsraffinade, 2,5 g K_2HPO_4 und 0,5 g $MgSO_4$ zeigten alle oben angeführten Pilze gute Entwicklung unter Ammoniakbildung. Alle zum Versuch herangezogenen Pilze vermochten demnach Harnsäure als alleinige Stickstoffquelle zu verwerten.

Zersetzung von Hippursäure: In einer Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm Leitungswasser, 2 g Hippursäure, 25 g Handelsraffinade, 2,5 g K_2HPO_4 und 0,5 g $MgSO_4$ kamen Phytophthora infestans, Mucor Boidin, Aspergillus niger, Isaria farinosa, Botrytis bassiana und Fusisporium zur guten befriedigenden Entwicklung und zeigten zugleich Ammoniakbildung. Es genügt demnach die Hippursäure als alleinige Stickstoffquelle für das Gedeihen der genannten Pilze. Penicillium crustaceum, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus und Cladosporium herbarum kamen auch nach Verlauf von sechs Wochen weder in der oben angeführten Hippursäurelösung, noch in solchen mit niedrigerem und höherem Hippursäure-

gehalt (0,5 ‰, 5 ‰ und 1 %) zu einigermaßen entsprechender Entwicklung. Ob diese zuletztgenannten Pilze die Hippursäure bei Anwesenheit anderer Stickstoffverbindungen zersetzen bezw. assimilieren, konnte von mir bisher noch nicht mit voller Sicherheit festgestellt werden.

Zersetzung von Glykokoll: Penicillium crustaceum, Aspergillus niger, Mucor Boidin, Phytophthora infestans, Isaria farinosa, Botrytis bassiana, Penicillium brevicaule und Fusisporium zeigten in einer Nährlösung von der Zusammensetzung: 1000 ccm Leitungswasser, 25 g Handelsraffinade, 2,5 g K_2HPO_4, 0,5 g $MgSO_4$ und 2 g Glykokoll eine kräftige Entwicklung unter Ammoniakbildung, waren also auch imstande Glykokoll als alleinige Stickstoffquelle auszunützen.

Bibliographie.

1) P. Miquel, Bulletin Société chimique. Paris, 1878, t. 29, p. 387, 1879, t. 31, p. 391 und Annuaire de l'observatoire de Montsouris, 1882, p. 464.

2) O. Semal, Ann. de pharm. 1894, t. 4, p. 279.

3) K. Shibata, Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie, 1904, Bd. 5, S. 388.

4) R. Lieske, Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 50, 1911, S. 342.

5) St. Bierema, Zentralbl. f. Bakt. 2. Abt. 1909, Bd. 23, S. 709.

6) D. Carbone und M. Rusconi, Boll. Soc. med. Pavia, V, 1910, 15.

Sammelreferate.

Neuere Literatur über Atichia Flotow.

Von **Jos. Weese**, Wien.

Nach Fr. v. Höhnel (1) gehört Atichia Flot. zu jenen Pilzen, die, trotzdem sie schon lange bekannt sind und auch häufig auftreten, den meisten Mykologen eigentlich doch unbekannt geblieben sind. Die Folge einer derartigen Unkenntnis ist, daß neue Pilzgattungen im Laufe der Zeit aufgestellt wurden, die sich bei einer nachträglichen kritischen Revision als mit längst beschriebenen völlig identisch erweisen müssen. Dies ist auch bei der Atichia Flot. der Fall, eine Gattung, die schon 1820 aufgestellt wurde und seit 1865 durch Millardet so genau beschrieben ist, daß es keine großen Schwierigkeiten macht, verwandte Organismen als hierher gehörig zu erkennen.

v. Höhnel (1) gelang es nämlich durch seine Untersuchungen unwiderleglich nachzuweisen, daß Heterobotrys Saccardo, Atichiopsis Rud. Wagner und Seuratia Patouillard mit der Gattung Atichia Flotow vollständig zusammen fallen. Der von Bernard (2) unter dem Namen Capnodium stellatum beschriebene Pilz erwies sich als ein Gemenge von drei Ascomyceten, unter denen sich auch die Atichia Millardetii Racib. befand. Die von Saccardo bei Torula Lechneriana erwähnten Schleimklümpchen gehören ebenfalls zu Atichia. Dasselbe gilt auch bezüglich der von Neger als Nebenfrucht von Antennaria scoriadea Berk. angegebenen Gebilde.

Seuratia coffeicola Pat. ist vollkommen identisch mit Atichia Millardetii Rac.; Seuratia pinicola Vuillemin mit Atichia glomerulosa (Ach.) Flot.

Atichia ist also oft gesehen und fast ebenso oft verkannt worden. Die systematische Stellung dieses Pilzes ist bisher eine völlig rätselhafte gewesen. Er hat schon eine ziemliche Wanderung durch das System der Pilze hinter sich. Bald wurde er als Flechte, bald als Pyrenomycet, bald als Discomycet betrachtet. Manche Autoren fanden Ähnlichkeiten mit Myriagiaceen, andere sogar mit Rhodophyceen und Fucoideen. Vuillemin stellte für Seuratia Pat. (= Atichia) eigens die Familie der Seuratiaceen auf, die er als Unterordnung zu den Perisporiales rechnet.

v. Höhnel gelang es Klarheit über die systematische Stellung der Atichia zu erlangen. Dieser Pilz zeigt nämlich die bemerkenswerte Eigentümlichkeit, daß sämtliche Elemente desselben durch Sprossung zustande kommen. Echte Hyphen fehlen vollständig. v. Höhnel faßt aus diesem Grunde die Atichia Flot. als einen hochentwickelten Saccharomyceten auf, der sich an die epiphytische Lebensweise angepaßt hat. Die größte Abweichung von den bisherigen Saccharomyceten scheint in der Zweizelligkeit der Sporen zu liegen.

Zum Schluß gibt v. Höhnel eine Charakteristik und eine Übersicht über die Atichieen und beschreibt eine neue Art, die er in Java gesammelt hat und Atichia Treubii v. H. nennt.

Etwas später stellte v. Höhnel (3) fest, daß Actinomma Gastonis Sacc. auch eine unreife Atichia ist und daß Myriophysa atra Fr. ebenfalls ein Jugendzustand von Atichia glomerulosa sein dürfte.

In einer erst kürzlich erschienenen Arbeit gibt derselbe Forscher (4) der Vermutung Ausdruck, daß vielleicht Myriophysella Speg. das Konidienstadium einer Atichia sei.

Arnaud (5) gelangte durch seine Studien über Seuratia Pat. zu ganz anderen Ergebnissen als v. Höhnel. Er (6, 7) betrachtet nämlich die Pilze der Gattung Seuratia Pat. als einfache Modifikationen von verschiedenen Sphaeriaceen. Die Seuratiaceen stellen seiner Ansicht nach unter den Fumagineen nur eine teratologische Gruppe dar, die als systematische Familie nicht aufrecht erhalten werden kann.

Unter Fumagineen versteht Arnaud die Pilze, deren braunes Myzelium sich wenigstens teilweise auf der Oberfläche der mit der Luft in Berührung kommenden Pflanzenorgane entwickelt. Sie stellen also keine systematische Einheit dar und enthalten (mit Ausnahme von Calicium [Discomycet]) verschiedene Sphaeriaceen-Gattungen.

Die Organe der Fumagineen sollen einen Polymorphismus zeigen, der bei den Fruchtbehältern vor allem in zwei teratologischen Abänderungen, in der Seuratisation und der Mykromegalie, zum Ausdruck kommen soll.

Die Seuratisation besteht nach Arnaud darin, daß die Zellwände, die bei den Fumagineen immer mehr oder weniger verdickt sind, verschleimen und die Pilze auf diese Weise jene bizarren Formen annehmen, die unter dem Namen Seuratia Pat. beschrieben worden sind.

Mykromegalie soll die Eigentümlichkeit der typisch meist kugeligen Fruchtkörper sein, unter gewissen Bedingungen eine vertikale Verlängerung zu zeigen, die auch durch Verzweigung komplizierter werden kann. Die Mykromegalie soll zur Folge haben, daß Sphaeriaceen solche Formen annehmen, wie sie unter dem Namen Capnodium und unter den verlängerten Formen (Ceratopykniden) bei den Sphaeropsideen beschrieben sind.

Die Gattung Capnodium soll also teratologische Formen aus den Gattungen Pleosphaeria und Teichospora umfassen — eine Ansicht, die

wohl ganz entschieden zurückgewiesen werden muß. Die Familie der Capnodiaceen ist nach Arnauds Meinung selbstverständlich dann aufzulassen.

v. Höhnel (8) hat uns aber neben einer neuen Charakterisierung der Capnodiaceen den Nachweis gebracht, daß diese Familie eine ganz natürliche Gruppe darstellt.

Von demselben Forscher (9) stammt auch eine gute Übersicht über die Capnodiaceengattungen her, zu der nur nach seinen eigenen Untersuchungen hinzuzufügen ist, daß Capnodiella Sacc. eine Coryneliaceae ist und daß vielleicht Paracapnodium Speg. noch in die Tabelle aufzunehmen wäre. Capnodiopsis P. Henn. hat mit den Capnodiaceen nichts zu tun, weil dieser Pilz nach v. Höhnel (4) eine Agyriee (Discomycet) ist.

Ganz unzutreffend ist aber vor allem Arnauds Anschauung über Seuratia (Pat.) (= Atichia Flot.), die er selbst mit Recht als eine Hypothese bezeichnet.

Arnaud will nämlich durch das Studium der Entwicklungsgeschichte von Pleosphaeria Citri gefunden haben, daß durch Verschleimung dieses Pilzes und durch das darauffolgende Aufreißen der Fruchtkörper eine Seuratia entsteht. Er will beobachtet haben, wie auf Blättern die Perithezien von Pleosphaeria Citri gemischt mit seuratoïden Gebilden auftreten und wie Pleosphaeria-Fruchtkörper sich in die Seuratia umwandeln.

Arnaud begeht halt hier leider den Fehler, daß er für zwei auf demselben Blatt nebeneinander und unabhängig voneinander auftretende Pilze genetische Beziehungen konstruiert, die in Wirklichkeit gar nicht bestehen.

Auch der Gegensatz, daß die Pleosphaeria Citri mauerförmige, braune Sporen und die Seuratia, die aus erstgenanntem Pilz hervorgehen soll, nur zweizellige, hyaline bis braune Sporen besitzt, macht Arnaud keine Sorgen, denn er hat gleich wieder zwei Erklärungen bei der Hand. Entweder ist die Zweizelligkeit der Seuratia-Sporen nur ein Entwicklungszustand oder seine ureigene Beobachtung ist nicht richtig und die Seuratia ist eine Umwandlung von Dimerosporium oder Asterina, die ja zweizellige Sporen besitzen.

Zuerst konstatiert er mit großer Befriedigung, daß er die Umbildung von Pleosphaeria Citri in Seuratia beobachtet habe, und dann muß er zur Stütze seiner wackeligen Hypothese erklären, daß die beobachtete Pleosphaeria auch ein Dimerosporium oder eine Asterina gewesen sein kann. Nun, das dürfte wohl schon genügen, um zu zeigen, daß Arnauds Seuratisations - Hypothese jeder tatsächlichen Grundlage entbehrt. Man braucht ja nur seine eigenen Abbildungen auf Tafel I u. II seiner ersten Arbeit (6) über dieses Thema aufmerksam zu betrachten und es wird einem sofort klar, daß Arnauds Anschauung auf Beobachtungsfehlern beruht und die beiden abgebildeten Pilze entwicklungsgeschichtlich nichts miteinander zu tun haben.

Im 2. Teil seiner „Contribution etc." (7), der 1911 erschienen ist, rechnet Arnaud auch Heterobotrys, Actinomma und Capnodium stellatum zu den seuratoiden Pilzen, von denen aber schon 1909 v. Höhnel konstatiert hat, daß sie mit Atichia identisch sind. Daß Capnodium stellatum nicht zum Beweis der Seuratisations-Theorie herangezogen werden kann, ist selbstverständlich, da ja v. Höhnel schon darauf hingewiesen hat, daß es sich hier um ein Gemisch von Pilzen handelt, das allerdings Vuillemin (10) für eine Vereinigung von Askomyzeten hält, vergleichlich dem Zusammenleben von Algen und Pilzen in den Flechten.

Arnaud scheint weder die Untersuchungen von Millardet noch die von v. Höhnel aufmerksam verfolgt zu haben, denn sonst könnte er nicht in einer seiner Arbeiten (5) davon sprechen, daß v. Höhnel die Seuratia der Atichia nähert, während er sie in Wirklichkeit identifiziert, und könnte nicht behaupten, daß Millardet Atichia zu Naetrocymbe und Hyphodyction stellt, was ja doch nicht im geringsten richtig ist. Hyphodyction Mill. ist dasselbe wie Atichia Flot. und Naetrocymbe wird ganz einfach in derselben Arbeit beschrieben, in der auch die Atichia behandelt wird. Von verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen letztgenannten zwei Pilzen erwähnt Millardet kein Wort.

Arnauds Arbeiten bieten zwar eine gute Übersicht über die Rußtaupilze und enthalten sicher manche interessante Ergebnisse — über die angeführten Gattungen Zukaliopsis P. Henn., Perisporina P. Henn., Schenckiella P. Henn.. Perisporiopsis P. Henn. und Zukalia Sacc. liegen allerdings schon neuere Untersuchungen v. Höhnels (11, 12) vor — aber die darin aufgestellten Hypothesen haben entschieden keine Berechtigung.

v. Höhnels Anschauung über die systematische Stellung von Atichia ist somit bisher die einzige wirklichkeitsgemäße und wahrhaft befriedigende.

Bibliographie.

1) Fr. v. Höhnel, Atichia Treubii v. Höhnel (Saccharomycetes). (Annales du Jardin botanique de Buitenzorg, 2e Série, III. Suppl., 1910, pag. 19—28).

2) Ch. Bernard, Sur quelques maladies de Citrus sp., Castilloa elastica, Thea assamica, Oreodoxa regia. — A. Sur la fumagine de divers végétaux. (Bulletin du département de l'Agriculture des Indes Néerlandaises, 1907, pag. 1—24, pl. I. et II.)

3) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, X. Mittlg., Nr. 473 (Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXIX, 1910, pag. 397—398).

4) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, XIII. Mittlg., Nr. 718 (Sitzungsber. d. Kaiserl. Akademie der Wissensch. in Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXX, 1911, pag. 473, 386).

5) Gabr. Arnaud, Contribution à l'étude des Fumagines (Annales Mycologici, Bd. VIII, 1910, pag. 470—476).

6) u. 7) Gabr. Arnaud, Contribution à l'étude des Fumagines. Ire (6) et IIme (7) partie. (Annales de l'École nationale d'Agriculture de Montpellier, IIme Serie, Tome IX, 1910, pag. 239—277, tab. I—III; Tome X, 1911, pag. 211—330, Fig. 1—29).

8) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, VIII. Mittlg., Nr. 379 (Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien, Abt. I, Bd. CXVIII, 1909, pag. 1193—1201).

9) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, XI. Mittlg., Nr. 532 (Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien, Bd. CXIX, 1910, pag. 625).

10) P. Vuillemin, Le genre Seuratia et ses connexions avec les Capnodium. (Comptes rendus de l'Académie des sciences de Paris, Tome CXLVI, 1908, pag. 307—308.)

11) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, XII. Mittlg., Nr. 598, 608, 609, 611 (Sitzungsberichte d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien, math.-naturw. Kl., Bd. CXIX, Abt. 1, 1910, pag. 895, 905, 906, 916).

12) Fr. v. Höhnel, Fragmente zur Mykologie, XIII. Mittlg., Nr. 659 (Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, Bd. CXX, Abt. I, 1911, pag. 659).

Fortschritte der landwirtschaftlichen Bakteriologie. I.

(Sammelreferat der in den Jahren 1910 und 1911 erschienenen einschlägigen Arbeiten.)

Von Prof. **F. Löhnis.**

Seit dem Abschlusse der Literatur-Zusammenstellung für mein „Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie (Oktober 1909) wurden rund 1200 Arbeiten veröffentlicht, die für den Agrikultur-Bakteriologen von größerem oder geringerem Interesse sind. Es besteht nicht die Absicht, sie an dieser Stelle in extenso anzuführen, nur soweit sie zu einer Erweiterung unserer Kenntnisse Veranlassung gaben, soll ihrer hier gedacht werden. Zunächst wird das Gebiet der Futtermittel- und Molkerei-Bakteriologie ins Auge zu fassen sein, weiterhin folgt die Bakteriologie des Düngers und des Bodens.

Von Werken, die das Gesamtgebiet der landwirtschaftlichen Bakteriologie umfassen, gelangten 1910 bezw. 1911 zur Veröffentlichung: die 2. Auflage von E. Kaysers „Microbiologie agricole“ ferner Percivals „Agricultural Bacteriology“ und als „Anleitung zur Ausführung von landwirtschaftlich-bakteriologischen Untersuchungen und Demonstrations-Experimenten“ Löhnis' „Landwirtschaftlich-bakteriologisches Praktikum“. Der Bakteriologie der Futtermittel sowie der Milch- und der Molkereiprodukte sind einige Abschnitte der „Einführung in die Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe“ von A. Kossowicz gewidmet. Die „Mykologie der Milch“ hat durch Weigmann (in einem Werke gleichen Titels) eine spezielle Bearbeitung erfahren.

Bei der Besprechung der am Schlusse des Referates aufgeführten Einzel-Arbeiten folge ich der in meinem Handbuch gewählten Einteilung des Stoffes.

I. Vorkommen und Tätigkeit von Mikroorganismen in den Futtermitteln.

A. Allgemeines über die Mikroflora der Futtermittel.

Die epiphytische Flora der Weidepflanzen ist mit Rücksicht auf ihre milchwirtschaftliche Bedeutung neuerdings von H. Weigmann (159, S. 134 f.) z. T. in Gemeinschaft mit A. Wolff (160) näher untersucht worden. Es ergab sich, daß besonders bei naßkalter Witterung eine nachteilige Änderung des Mikroben-Bestandes insofern einzutreten pflegt, als dann verschiedene psychrophile Arten stark vorherrschen, unter ihnen namentlich alkaliproduzierende und peptonisierende Bakterien, Hefen sowie Schimmelpilze. Die Folge ist

eine langsam säuernde, zum Bitterwerden neigende Milch, die einen schwer zu verbutternden Rahm liefert. Auch aus Bohnenschrot, dessen Verfütterung ebenfalls nicht selten zum Auftreten bitterer Milch Veranlassung gibt, wurden Bakterien (viel gelbe und weiße Kokken sowie ein grünlichgelbes Kurzstäbchen) isoliert, die als Erreger dieses „Milchfehlers“ anzusehen sind. — Während die Milchsäure-Streptokokken mehrfach, wenn auch nicht in großer Menge so doch ziemlich regelmäßig an Futterpflanzen, wenigstens an den von gedüngtem Lande geernteten, gefunden worden sind, konnte neuerdings von Heinemann und Hefferan (54) der entsprechende Nachweis auch für die Laktobazillen geführt werden. Nachdem diese milchwirtschaftlich besonders interessanten Organismen in weiterhin anzuführenden Arbeiten als konstante Bewohner des Verdauungstraktus der Rinder erkannt worden sind, und auch die Möglichkeit gegeben ist, sie verhältnismäßig rasch an beliebigen Stellen aufzufinden, werden jedenfalls spezielle Forschungen in dieser Richtung weitere interessante Aufschlüsse über den Kreislauf der Mikroorganismen im landwirtschaftlichen Betriebe vermitteln. Das den meisten Laktobazillen eigene relativ hohe Wärmebedürfnis wird allerdings einer lebhaften Vermehrung in der Außenwelt meist nicht günstig sein, immerhin ist zu berücksichtigen, daß auch in dieser Hinsicht die jeweiligen Existenzbedingungen modifizierend einwirken können. A. Koch und C. Hoffmann (74) haben analoge Herabsetzungen der Ansprüche exquisit thermophiler Arten festgestellt, demzufolge deren Wirken auch in den kälteren Klimaten nicht so ausschließlich auf deren Vorkommen in gärenden Pflanzenmassen usw. beschränkt zu sein braucht, wie bisher wohl allgemein angenommen wurde. Einen Einblick in das begreiflicherweise sehr häufige Vorkommen thermophiler Mikroben in tropischen Gebieten ermöglichen einige von E. de Kruijff (79) auf Java durchgeführte Untersuchungen. Zehn Stämme wurden etwas näher studiert, und deren Temperatur-Minima bei 35—45° liegend gefunden.

B. Die durch Mikroorganismen veranlaßten Veränderungen der Futtermittel.

Seine bereits 1907 veröffentlichten Untersuchungen über die Selbsterhitzung des Heues hat H. Miehe in gekürzter Form in einer zweiten Monographie (101) zur Darstellung gebracht; während früher auf eine eventuelle Mitwirkung von Enzymen nicht Rücksicht genommen war, wurde jetzt in zwei Versuchen konstatiert, daß Formaldehyd- und Chloroformzusatz die Erwärmung ausschließt. Die Möglichkeit, daß diese Behandlung nicht nur auf die thermogenen Organismen, sondern auch auf die Enzyme schädigend einwirkte, wird allerdings (a. a. O. S. 16) offen gelassen. Mit den an der Selbsterhitzung der Kohlen beteiligten Bakterien hat sich E. Galle (39), dem merkwürdigerweise die 1908 in der gleichen Zeitschrift veröffentlichte Arbeit Potters entgangen ist, erneut beschäftigt. Er erhielt u. a. kräftige Bakterien-Entwicklung und Gasbildung in Gemischen von Kohle mit Humus

und Flußwasser. Die vorwiegend aus Kohlenwasserstoffen bestehenden Gase machten zerkleinerte Kohle pyrophor, wenn sie mit dieser zusammen in Stahlbomben erhitzt wurden. Burgess und Wheeler (20) weisen darauf hin, daß für die Entzündlichkeit der Kohle nicht der Gesamtgehalt an flüchtigen Substanzen, sondern speziell die Menge derjenigen Stoffe maßgebend sei, die beim Erhitzen im Vakuum Paraffine liefern. Bei weiteren Untersuchungen über die Selbstentzündung des Heues dürfte diesen neuen Gesichtspunkten Rechnung zu tragen sein.

Mit der bereits ausgiebig erörterten Entstehung des Grünpreßfutters hat sich W. M. Esten (35) nochmals beschäftigt. Chloroformzusatz unterdrückte auch in diesem Falle die Säurebildung. In dem beim Ensilieren von Mais austretenden Saft wachsen zunächst Milchsäurebakterien, die bis 0,45 % Milchsäure darin produzieren, ihnen folgen Hefen, die den Zucker rasch vollständig zum Schwinden bringen. Der entstehende Alkohol wird meist in Essigsäure verwandelt. Nach etwa 12 Tagen waren die Umsetzungen beendet, bei denen übrigens als Höchsttemperatur nur 29° C gemessen wurden. Man ist damit völlig zu den altbewährten Grundsätzen der Sauerfutter-Bereitung zurückgekehrt. Die beim Einsäuern stattfindenden Veränderungen des Nährwertes von Luzerne, Rübenblättern und Maisstroh haben Tangl und Weiser (154) eingehend geprüft. Für die Luzerne, die sich bis auf 50° erhitzte, stellte sich besonders für das Reineiweiß eine sehr erhebliche Depression der Verdaulichkeit (um 42 %) heraus; der unverdauliche Anteil stieg um 46 %, wonach berechnet wird, daß auf die Bakterien- und Pilzsubstanz etwa 4—8 % vom fertigen Sauerfutter entfallen. Bei den Rübenblättern nahmen sämtliche unverdaulichen Nährstoffe zu, 90 % des Zuckers, 70 % der Oxalsäure wurden zersetzt; es wird mit Recht gefolgert, „daß die Gärungsvorgänge der verschiedenen Futtermittel durchaus nicht die gleichen sind“. Das (nach amerikanischer Art) ensilierte Maisstroh erfuhr nur verhältnismäßig geringe Änderungen in Zusammensetzung und Verdaulichkeit. Rohfett und Rohfaser wurden leichter verdaulich, wie sich denn überhaupt die Einsäuerung dieses Futtermittels weit besser bewährte als diejenige der beiden zuerst genannten, eiweißreicheren Substanzen. In Übereinstimmung hiermit konstatierte Schmöger (140) auch beim Einsäuern von Kartoffeln nur geringe Verluste (nach 10 Monaten 13,8 % der Trockensubstanz), die das Verfahren im Vergleich zur Trocknung noch rentabel erscheinen lassen. Die Temperatur stieg in diesen Fällen auf 35—40° C. Stutzer (152) berichtete demgegenüber allerdings von wesentlich höheren Verlustzahlen (25 % der stickstofffreien Extraktstoffe), doch hatten in diesem Falle die zur Einsäuerung bestimmten Kartoffeln vorher abnorm lange (bis zum Mai) in Mieten gelagert. Die in den Sauergruben während der ersten Zeit herrschenden Temperaturen begünstigen zweifellos das Wachstum der Laktobazillen (vgl. Heinemann und Hefferan). Auch im Sauerkraut treten nach Wehmers Beobachtungen (158) die Milchsäure-Streptokokken gegenüber den langen Stäbchen fast ganz zurück.

Vor allem haben aber die neueren Untersuchungen über die Darmflora erwiesen, daß der Verdauungstraktus speziell bei kohlenhydratreicher Ernährung als eigentliche Brutstätte der Laktobazillen anzusehen ist, wie dies allerdings auf Grund früherer Beobachtungen bereits sehr wahrscheinlich geworden war. Namentlich die Arbeiten von Choukévitch (25), Distaso (33), Heinemann und Hefferan (54), Herter und Kendall (57) sowie von Stevenson (150) haben hier die nötige Klarheit gebracht. Der zuerst genannte Autor konnte die in Rede stehenden Organismen (unter Verwendung von Essigsäure-Bouillon) regelmäßig im Darm des Pferdes nachweisen. Distaso untersuchte mit demselben Resultat den Darminhalt von Menschen und Hunden; leider hielt er es zugleich für nötig, längst beschriebene und benannte Formen nochmals mit neuen Namen zu belegen. Statt „acidophil" will er diese Bakterien als „acidotolerant" bezeichnet wissen; bereits in der 1907 erschienenen 4. Auflage von K. B. Lehmanns Diagnostik wurde der gleiche Vorschlag gemacht. Kendall (72) bevorzugt statt dessen die Bezeichnung „acidurisch"; seine z. T. in Gemeinschaft mit Herter publizierten Untersuchungsergebnisse demonstrieren speziell den Einfluß von Kohlenhydraten auf die Flora des Carnivoren-Darmes. Nach Heinemann und Hefferan sowie Stevenson sind Laktobazillen auch im Darminhalt bezw. in den Exkrementen erwachsener Rinder regelmäßig nachweisbar. Daß Oehler (108) sie sowohl im Kuhkot wie im Kalbs- oder Lamm-Magen vergeblich suchte, dürfte wohl lediglich auf die angewandte Untersuchungs-Methodik zurückzuführen sein. Nach meinen Erfahrungen geben Kulturen in Hefeextrakt-Molken (91, S. 90), wie sie Stevenson auf meinen Vorschlag hin benutzte, stets positive Befunde.

Über die Beteiligung der Pansen- und Darmbakterien am Verdauungsprozeß, speziell mit Rücksicht auf die Ausnutzung der Amide, sind in zwei Arbeiten von Morgen, Beger und Westhaußer (102, 103) sowie in einer von Kellner, Eisenkolbe, Flebbe und R. Neumann (71) einige beachtenswerte Mitteilungen enthalten. Nach Morgens Ansicht findet die Amidassimilation jedenfalls schon im Pansen statt (103, S. 298) und das entstehende Bakterieneiweiß ist nicht als unverdaulich anzusehen (102, S. 347 f.). Immerhin kann es sich nur um eine teilweise Verwertung des Bakterieneiweißes durch das Tier handeln, denn die Veröffentlichung Kellners zeigt von neuem, daß lediglich das zur Erhaltung des Tieres erforderliche Eiweiß durch Asparagin und Ammonazetat bei sehr eiweißarmer Ernährung der Wiederkäuer ersetzt werden konnte; dagegen können diese Stoffe nicht der Fleischbildung dienen.

C. Die Beeinflussung der Tätigkeit der in den Futtermitteln vorkommenden Mikroorganismen.

Entsprechend der Beteiligung von Streptokokken und Laktobazillen an der Entstehung von Sauerfutter sind verschiedene Impfmethoden in

Vorschlag gebracht worden. Crolbois (27) hat aus gesäuerten Diffusions-Rückständen Milchsäurebakterien isoliert, die unter der Bezeichnung „Lakto-Pülpe“ in den Handel gelangten. Nach den von Deutsch (32), Malpeaux (95), Sarcin (134) und W. Winkler (166) erstatteten Berichten hat sich der Gebrauch derartigen Materiales in Frankreich, Österreich und Ungarn als nützlich erwiesen. Die Säuerung verläuft bedeutend reiner und die Nährstoffverluste fallen infolgedessen wesentlich geringer aus. Besonders wird auch die Bekömmlichkeit des Sauerfutters entschieden besser. Speziell für die Einsäuerung von Rübenblättern empfiehlt dagegen Letzring (85) entweder unter Verwendung älteren gut gesäuerten Materials eine Vorvermehrung der Säurebildner in frischen Blättern vorzunehmen, die mit 60° warmem Wasser zu übergießen seien, oder direkt rein gesäuerte Milchsäuremaische aus der Brennerei zu verwenden, und sie vor der Verwendung mit 50—55° warmem Wasser hinreichend zu verdünnen. Letzring meint, daß zur Vermeidung größerer Nährstoffverluste auch die Milchsäurebildung im richtigen Zeitpunkte durch irgendwelche besonderen Maßnahmen zum Stillstande gebracht werden müsse; er erklärt entsprechende Versuche für wünschenswert (die indessen tatsächlich vollkommen überflüssig sein dürften).

II. Vorkommen und Tätigkeit von Mikroorganismen in der Milch und in den Molkereiprodukten.

I. Mikroorganismen in der Milch.

A. Allgemeines über die Mikroflora der Milch.

Trotzdem über das Vorkommen von Bakterien im gesunden Euter durch zahlreiche Arbeiten jedenfalls hinreichend Klarheit geschaffen wurde, werden gelegentlich doch noch recht überraschende Ansichten vertreten. So stellte Petruschky (113) auf dem „Deutschen Naturforschertage 1910“ den lapidaren Satz auf: „Es gibt keine normalen Milchbakterien; die normale Milch ist keimfrei.“ — Rullmann (131) beschäftigte sich unter Benutzung der von Trommsdorff ausgearbeiteten Methodik mit der aseptischen Gewinnung kleiner Milchproben; von 84 erwiesen sich 20 als vollkommen keimfrei, oft waren nur 2—5 Keime pro ccm vorhanden. Analog gestalteten sich die von Seibold (144) erlangten Resultate. Die mittels sterilisierter Melkröhrchen entnommenen Proben enthielten 0—12, im Mittel 3 Keime pro ccm; nach gründlicher Außendesinfektion des Euters fanden sich 0—85, im Mittel 48, nach Abseifen des Euters 0—434 und ohne besondere Maßregeln 10—6980 Keime pro ccm Milch.

Den Einfluß der Benutzung von Melkmaschinen (Lawrence-Kennedy- und Alfa-Dalen-System) auf den Keimgehalt der Milch haben Hofman-Bang (66) und Overgaard (111) von neuem geprüft. Die früher von anderer Seite erlangten günstigen Befunde konnten bestätigt werden, vorausgesetzt, daß Euter und Maschine peinlichst sauber gehalten wurden. Die in

den Vereinigten Staaten stellenweise gebräuchlichen, nur zu einmaliger Verwendung bestimmten Milchflaschen aus Papier bewährten sich bei einigen von Allyn (3) durchgeführten Prüfungen recht gut. Im Vergleich zu den in Glasflaschen aufbewahrten Kontrollproben blieb in den Papierflaschen der Keimgehalt etwa um die Hälfte niedriger und die Säuerung schritt dementsprechend langsamer vorwärts. Auf den mitunter bedenklich hohen Keimgehalt der beim Reinigen der Milchkannen in diesen zurückbleibenden Wasserresten macht eine Mitteilung von Berberich und Burr (10) aufmerksam. Nachdem die gereinigten Kannen 24 Stunden geschlossen aufbewahrt worden waren, konnten in den Spülwasserresten 18—21 Millionen Bakterien pro ccm nachgewiesen werden.

Mit der sogen. Bakterizidie der Milch, speziell der Colostralmilch, hat sich M. Bub (19) näher beschäftigt. Der Keimrückgang war bei 37° deutlicher als bei 15—18° C. In der Hauptsache werden die Bakterien nicht abgetötet, sondern agglutiniert; die Phagozytose ist ohne wesentliche Bedeutung. Sassenhagen (137) führt die bakterizide Wirkung der Colostrummilch auf dem Blut entstammende bakteriolytische Haptine zurück.

Der Einfluß der Temperatur auf die Keimvermehrung während der Aufbewahrung der Milch ist von Luxwolda (92) zum Gegenstand spezieller Studien gemacht worden. Milchsäurestreptokokken, B. coli, Staphylokokken, Fluoreszenten, B. subtilis und Proteus wurden sowohl in Rein- wie in Mischkultur in sterilisierter Milch (hinsichtlich Vermehrung und Säureproduktion) bei 3—5, 10, 13, 15 und 20° C geprüft. Die psychrophilen Eigenschaften des Bact. fluorescens kamen ebenso deutlich zum Ausdruck wie das relativ hohe Wärmebedürfnis der Heubakterien. Von besonderem Interesse ist die Feststellung, daß auch die Milchsäure-Streptokokken noch bei 3—5° deutliche Vermehrung (innerhalb 20 Tagen von 2600 auf 900000) zeigten, während allerdings die Säurebildung in diesem Falle nur sehr gering blieb. In den Mischkulturen kamen die Säure-Streptokokken bei 20 und 15° fast immer rasch zur Vorherrschaft. Ravenel, Hastings und Hammer (123) beschäftigten sich mit den Änderungen des Mikrobenbestandes in kalt aufbewahrter Milch. Noch bei 0° konnte eine deutliche Vermehrung der Zahl, der Azidität und des Gehalts an löslichem Stickstoff (bis 70 %) konstatiert werden, während allerdings bei — 9° keinerlei Änderung zu bemerken war.

Der Keimgehalt der Handelsmilch ist naturgemäß auch in den letzten beiden Jahren Gegenstand fortgesetzter Prüfungen geblieben. Umfangreichere Untersuchungen in dieser Richtung sind besonders von Chr. Barthel (9) in Stockholm, von Orla Jensen (69) in Kopenhagen, von E. Philippe (114) in Bern, von O. Profé (118) in Köln und von O. Schröter (141) in Leipzig durchgeführt worden. Etwas prinzipiell Neues ist dabei natürlich nicht herausgekommen und der Wert dieser Zahlenreihen beruht ja auch mehr darin, daß hierdurch weitere Anhaltspunkte zur Beurteilung der neueren biochemischen Milchprüfungsmethoden gewonnen wurden, worauf unten zurückzukommen sein wird. Die Maximalzahlen sind

immer noch recht hoch, z. B. in Stockholm 119, in Kopenhagen 120, in Leipzig 142 Millionen pro ccm. Barthel empfiehlt die von O. Jensen benutzte Gelatine (1000 Leitungswasser, 2,5 NaCl, 2 KH_2PO_4, 1 $MgSO_4$, 10 Glukose, 10 Laktose, 20 Pepton Witte, 120 Gelatine), trotzdem auf ihr weniger Keime zur Entwicklung kommen als auf Molkengelatine, zwecks Erlangung vergleichbarer Zahlen zum allgemeinen Gebrauch. M. E. ist bei Massenuntersuchungen die Anwendung von Agar (bei 38° C) nicht zu umgehen; die mindestens 8 Tage aufzubewahrenden Gelatineplatten erfordern nicht nur übermäßig viel Zeit bei der wiederholten Kontrolle der abzutötenden Kolonien, sondern auch soviel Platz im 20°-Thermostaten, wie er keineswegs in allen Laboratorien verfügbar ist. Breed (17) erklärt sich für eine mikroskopische Auszählung der Milchkeime; ob indessen dabei wirklich immer soviel mehr Keime gefunden werden als in den Gußkulturen, müßte zunächst noch durch umfangreiche Nachprüfungen erwiesen werden (dicht besäete, nur 24 Stunden aufbewahrte Platten sind kein einwandfreies Vergleichsmaterial).

Auf Grund von Keimzählungen in 90 Proben Flaschenmilch stellten Torrey und Rahe (157) fest, daß in der Regel bei frischer Milch die oberste Rahmschicht 50—100 % mehr Bakterien enthält als die tieferen Partien. Ist auch die am Flaschenboden befindliche Milch keimreich, so handelt es sich entweder um alte oder um warm aufbewahrte Milch.

Recht zahlreich sind weiterhin diejenigen Veröffentlichungen, die sich mit dem Streptokokken- und Leukozyten-Gehalt der Milch beschäftigen. Das Fazit, das ich in meinem „Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie" (S. 165) aus den bis 1909 erschienenen Arbeiten ziehen konnte, hat allenthalben Bestätigung gefunden. Namentlich die Publikationen von Boekhout und Ott de Vries (15), Breed und Stidger (18), Hastings und Hoffmann (51), sowie Hewlett, Villar und Revis (62) sind hier in Betracht zu ziehen. Die Höhe des Leukozyten-Gehaltes der Milch kann nicht ohne weiteres als Hinweis auf einen pathologischen Zustand des Euters angesehen werden; es ist nicht richtig, den Zellgehalt der Milch schlechthin als „Milcheiter" zu bezeichnen. Auch im gesunden Euter kommen gelegentlich Streptokokken vor. Petruschky (113) verharrt allerdings, unbekümmert um alle gegenteiligen Befunde, auf seinem grundsätzlich abweichenden Standpunkt. Die 90—99 % Streptokokken in der Milch entstammen nach seiner Meinung Krankheitsprozessen des Euters oder des Darmes der Kühe bezw. des Menschen; es sei nicht berechtigt, eine biologische Abgrenzung zwischen Streptococcus lactis und St. pyogenes vorzunehmen; alle Streptokokken sollen, wenn sie in größeren Mengen als 100000 pro ccm vorhanden sind, durch Intoxikation im Säuglingsdarm schädlich wirken. Puppel (119) hat sich um die Widerlegung dieser Behauptungen bemüht; nie hat sich für einen Milchsäurestreptokkokken-Stamm der Nachweis pathogener Eigenschaften erbringen lassen. J. Behr (7) gelangte zu analogen Befunden.

Das bisher meist übersehene regelmäßige Vorkommen von Laktobazillen in der Kuhmilch ist durch Hastings und Hammer (50), Heinemann und Hefferan (54) sowie W. Stevenson (150) erwiesen worden. Die Dinge liegen hier ganz ähnlich, wie dies oben in bezug auf die Darmflora dargelegt wurde.

Die von Vanderleck empfohlene Coli-Probe (mittels Äsculin-Ferricitrat) kann sowohl zu niedrige wie zu hohe Werte liefern. Nach Klotz und Rankin (73) riefen nur 1/3 der geprüften, vom Menschen stammenden Coli-Stämme die charakteristische Verfärbung hervor. Andrerseits können, wie O. Schröter (141) feststellte, auch verschiedene andere Bakterien die gleiche Erscheinung auslösen. Von Dr. Dons ausgeführte (in der Arbeit Schröters mitgeteilte) Versuche führten zu dem gleichen Resultat.

Besonders ausgiebige Erörterungen wurden den verschiedenen Modifikationen der Reduktions- und der Katalase-Probe zuteil. Auf Grund der Arbeiten von Barthel (9), Burri und Kürsteiner (22), Kuntze (80), Philippe (114) und Schröter (141) darf als erwiesen angesehen werden, daß der Verlauf der Reduktion des Methylenblaus zwar einen ungefähren, aber keineswegs einen vollkommen zutreffenden Anhalt über den Keimgehalt der betreffenden Milchproben liefert. Barthel und Kuntze erklären sich zwar mit den von ihnen beobachteten Beziehungen völlig zufrieden gestellt, indessen zeigen doch auch die von ihnen mitgeteilten Zahlenwerte z. T. recht erhebliche Unstimmigkeiten. Es wird sich wohl mit der Zeit als das Beste herausstellen, lediglich darauf zu achten, ob die Reduktionszeit abnorm kurz oder sehr lang ist, wie das in ähnlicher Weise (speziell für Käsereimilch) bereits von Orla Jensen (68) als maßgebend hingestellt wurde. Die Kombination von Reduktions- und Gärprobe (im selben Glas) kann sowohl (häufiger) zu Verschlechterungen als auch (seltener) zu Verbesserungen der Gärprobenbilder Veranlassung geben (vgl. Schröter); der gesonderten Prüfung muß demgemäß der Vorzug gegeben werden[1]. — A. Bach (6) empfiehlt statt „Reduktase“ den Ausdruck „Redukase“ zu verwenden; das bei der Reduktion der Formalin-Methylenblau-Lösung in Tätigkeit tretende (schon mehrfach umgetaufte) Enzym wünscht er als „Perhydridase“ bezeichnet zu sehen. Wie bereits nach früheren Arbeiten anzunehmen war, hat sich übrigens die Reduktion des Formalin-Methylenblaues als gänzlich ungeeignet zur hygienischen Beurteilung der Milch erwiesen.

Daß die Katalaseprobe ziemlich sichere Anhaltspunkte über eine etwa vorhandene abnorme Beschaffenheit der Milch gewährt, dagegen in bezug auf deren Bakteriengehalt nur wenig zu erkennen gestattet, haben außer

[1] Wie mir Herr Prof. Jensen kürzlich mitteilte, stellt neuerdings die Firma Blauenfeldt und Tvede in Kopenhagen L. Methylenblau-Tabletten her, die er in Übereinstimmung mit Chr. Barthel als internationale Norm in Vorschlag bringen möchte. Differenzen zwischen Gär- und Gärreduktase-Probe sollen sich bei Verwendung dieses Präparates, in dem sich das Methylenblau in geringerer Konzentration vorfindet, kaum oder überhaupt nicht mehr ergeben.

den oben genannten, auch eine recht ansehnliche Zahl anderer Arbeiten erwiesen. Wichtig ist aber vor allem die sowohl aus einigen von Boekhout und Ott de Vries (15) herrührenden Beobachtungen, wie aus weit zahlreicheren, von Schröter durchgeführten Vergleichen sich ergebende Tatsache, daß zwischen dem Ausfall der (weit einfacheren) Leukozyten- und der Katalaseprobe ein fast vollkommener Parallelismus besteht; bei Differenzen ist in der Regel (Ausnahmen kommen allerdings auch hier vor!) die Leukozytenprobe zuverlässiger. Zwischen den Resultaten der Reduktions- und der Katalaseprobe besteht naturgemäß kein konstantes Verhältnis, ebenso kann aber nicht, entgegen einer von Weigmann (159, S. 245) vertretenen Annahme, die Katalaseprobe die Gärprobe ersetzen (vgl. Schröter). Von neueren Katalase-Apparaten seien diejenigen von Lobeck (88), Gerber und Ottiker (40), Laxa (83) sowie von Löhnis und Schröter (91, S. 77) hier genannt. Der zuerst genannte Autor (89) erfand auch einen (überflüssig komplizierten) „Reduktaser".

Schern (138) hält die sog. „Labhemmprobe" (d. h. die verzögerte oder ausbleibende Gerinnung bei bestimmtem Labzusatz) für besonders wertvoll zur Erkennung abnormer, speziell pathologischer Milch. Höyberg (65) legt auf die (oft, aber keineswegs immer vorhandene!) alkalische Reaktion der Milch aus entzündeten Eutern besonderen Wert; er empfiehlt je 5 ccm Milch mit 5 ccm Rosolsäure-Alkohol zu versetzen und auf eine etwa eintretende lachsrote Färbung zu prüfen.

Im ganzen wird man, soweit die hygienische Kontrolle der Marktmilch in Frage steht, dem nicht allzu enthusiastischen Urteil zustimmen müssen, das Lenzen (84) über den Wert der Enzym-Reaktionen fällt; namentlich für eine etwaige Euter-Tuberkulose gewähren weder die Reduktions- noch die Katalaseprobe in ihrer gegenwärtigen Form irgend welchen zuverlässigen Anhalt.

B. Die durch Mikroorganismen veranlaßten Veränderungen der Milch.

Je nachdem die ursprüngliche, normale Beschaffenheit der Milch bereits innerhalb des Euters oder erst nach Verlassen desselben Veränderungen erfährt, spricht Schern (139) von ensomatischen bezw. exsomatischen Veränderungen. W. van Dam (29) betont, daß weit wichtiger als der bisher fast allein berücksichtigte (durch Titration ermittelte) „potentielle" Säuregrad der Milch deren „reelle" Azidität (H-Ionen-Konzentration) sei; besonders mit Rücksicht auf die Vorgänge im reifenden Käse (s. unten) ist diese Scheidung zweifellos von prinzipieller Bedeutung. Wie sehr mitunter die Vermehrung der Milchsäurebakterien der Säurebildung vorauseilen kann, illustrieren einige von Burri und Kürsteiner (22) erhobene Befunde mit besonderer Deutlichkeit. Z. B. wurden in der zur „Reifung" aufgestellten Käsereimilch bis 400 Millionen Milchsäurebakterien gezählt; trotzdem hatte die Azidität zunächst nur eine Erhöhung um 1—2^0 erfahren.

Die von White und Avery (162), Makrinoff (94) und J. N. Currie (28) ausgeführten vergleichenden Prüfungen einer größeren Zahl von Laktobazillen-Stämmen haben willkommene Bestätigungen früherer Beobachtungen und Vermutungen gebracht. Der Vorschlag Makrinoffs, für diese Gruppe die Bezeichnung Bacillus lactis acidi Leichm. zu verwenden, ist aus oft dargelegten Gründen nicht akzeptabel. Desgleichen kann (entgegen White und Avery) Körnchenbildung und Art der produzierten Milchsäure nicht als Typenmerkmal in Frage kommen; in dieser Hinsicht bringt gerade Curries Veröffentlichung weiteres, schätzenswertes Material.

Bosworth und Prucha (16) untersuchten die bisher nicht geprüfte Vergärung der in der Milch vorhandenen Zitronensäure. Nur B. aërogenes erwies sich als wirksam, er zerlegt die Zitronensäure in CO_2 und Essigsäure.

Der bisher sehr stiefmütterlich behandelten Hefen haben sich W. Dombrowski (34) sowie Orla Jensen (70) ein wenig angenommen. Der zuerst genannte Autor beschrieb 3 Saccharomyces-, 1 Zygosaccharomyces-, 6 Torula- und 2 Mycoderma-Arten, die normaler oder fermentierter Milch, Rahmreifungskulturen, der Butter oder dem Naturlab entstammten. Jensen hat speziell die aus Butter isolierten Torulaformen nach ihrem Gärvermögen, der Art ihres Wachstums in Gelatine und ihrem morphologischen Verhalten in 4 Gruppen geordnet. Harden und Norris (49) berichten, daß es ihnen gelungen sei, verschiedenen Hefearten die Befähigung zur Galaktosevergärung experimentell zu verleihen.

Gorini (44) hat seinen Säurelabbakterien zwei weitere Vertreter hinzugefügt, die er Microc. casei acido-proteolyticus I und II benannte. Die illustrierte Beschreibung läßt keinen Zweifel, daß es sich bei Nr. II um einen jener kaseinlösenden Streptokokken handelt, von denen nun schon eine ganze Anzahl bekannt geworden ist. Weigmann (159, S. 214, 223) und Mazé (98, S. 403) erörterten ebenfalls die proteolytische Wirkung von Milchsäurebakterien, speziell mit Rücksicht auf den Verlauf der Käsereifung (s. unten).

Marcas und Huyge (97) fanden die von Trillat und Sauton in Vorschlag gebrachte Prüfung der Milch auf Ammoniak (mittels JCl_3) als recht brauchbar. Ein positiver Ausfall der Reaktion deutet auf ungeeignete Gewinnung und Behandlung der Milch. Söhngen (147a) fand in Milch 180 bis 20000 fettzersetzende Keime pro ccm; außer durch Fettspaltung können sie durch Bildung bitterer und schlecht riechender Produkte aus den Eiweißsubstanzen von erheblichem Nachteil werden. Wie sich derartige Organismen zuweilen bereits im Euter einnisten, so kann dies nach Beobachtungen von A. Schultze (143) auch mit den Erregern anderer Milchfehler, speziell mit dem Bact. syncyaneum der Fall sein. In 6 Fällen erwiesen sich stets sämtliche Euterviertel infiziert. In den Aufbewahrungsräumen beförderten außerdem die Fliegen die Ausbreitung des Übelstandes sehr, der nur durch längere Zeit fortgesetzte Desinfektion der Euter, der Räume und der Geräte sowie durch Verwendung von Gazedeckeln zur Ab-

haltung der Fliegen behoben werden konnte. Sadler (133) begegnete, besonders im Frühjahr, Rassen von Milchsäurebakterien, die der Milch einen ausgesprochenen Geschmack und Geruch nach gekochter Milch verliehen, zugleich wurde die Milch bitter und Butter sowie Käse direkt ungenießbar. Die Herkunft der Organismen konnte bisher nicht aufgeklärt werden; trotz Gebrauchs eines guten Säureweckers blieb eine bedeutende Qualitätsverminderung bestehen.

Zur Gewinnung eines allgemeinen Anhalts über den Zersetzungsgrad der Milch empfahl W. Morres (104, 105) wiederholt die Verwendung der Alkoholprobe in Verbindung mit einem Alizarinzusatz (die sogen. „Alizarol-Probe"). Tatsächlich gibt jedoch nur schon relativ stark veränderte Milch einen deutlichen Farbenumschlag; für die Prüfung von Handelsmilch kann die Methode kaum in Betracht kommen (vgl. Barthel [9] und Schröter).

C. Die Beeinflussung des Keimgehaltes der Milch.

Von historischem Interesse ist der kürzlich von Helbig (56) geführte Nachweis, daß bereits im Jahre 1884 O. E. Pohl auf dem Hofe Sierhagen bei Neustadt (Kreis Oldenburg, Reg. Bez. Schleswig) in großem Maßstabe versucht hat, eine möglichst aseptische Flaschen-Milch zu gewinnen, die sich denn auch 6 Wochen lang unverändert frisch gehalten hat. Schümann (142) beschrieb ein von ihm (in Gemeinschaft mit Dr. Eichloff) ausgearbeitetes auf seiner Besitzung in Anwendung gebrachtes Verfahren zur Gewinnung einer möglichst keimarmen Milch, das durch eine besonders zweckmäßige Form der benutzten Gefäße wie durch relative Billigkeit ausgezeichnet ist. Heinemann, Luckhardt und Hicks (55) fanden bei Verwendung enghalsiger Melkeimer (im Durchnitt von 108 Zählungen) bei Anwendung eines Filters 620, ohne Filter 674 Keime pro ccm. Eine zusammenfassende Darstellung über die Gewinnung von Kindermilch (mit viel Literatur) veröffentlichte K. Poppe (116).

M. Seiffert (146) befürwortete nachdrücklich die Verwendung der von ihm konstruierten Milchflaschen-Verschlüsse (Aluminiumblättchen mit sterilem Agar-Belag). Irrtümlicherweise erklärt er das von mir empfohlene Unterlegen der allgemein gebräuchlichen Pappdeckel mit ausgekochtem Pergamentpapier, das sich nun schon mehrere Jahre in einer größeren Zahl von Betrieben durchaus bewährt hat, als zu umständlich und die Infektionsgefahr erhöhend. Die in Leipzig im Handel vorkommenden mit Seiffertschem Verschluß versehenen Milchflaschen sind sehr oft (infolge der geringen Haltbarkeit der Aluminiumblättchen) undicht; fast immer finden sich auf der „sterilen" Unterseite, namentlich wenn die Milch einige Zeit aufbewahrt wurde, besonders üppige Pilz- und Bakterien-Wucherungen.

Die wiederholt konstatierte, mit der Verteilung von Bakterienkonglomeraten in Zusammenhang gebrachte Erhöhung der Keimzahl infolge des Filtrierens und Zentrifugierens der Milch ist nach Gutzeits Ansicht (46) lediglich darauf zurückzuführen, daß zwischen den verschiedenen Probenahmen eine (durch die erhöhte Temperatur geförderte) Vermehrung der Keime

stattgefunden hat. Die mitgeteilten Versuchs-Ergebnisse sind recht instruktiv; immerhin scheint mir die Frage noch weiterer Bearbeitung zu bedürfen. Gleiches gilt für die von Heinemann und Class (53) beobachteten Beziehungen zwischen Fettgehalt des Rahmes und Keimmenge in Milch und Rahm nach dem Zentrifugieren.

Mit der Tiefkühlung der Milch haben sich in letzter Zeit besonders Pies (115) sowie Ravenel, Hastings und Hammer (123) beschäftigt. Mit Rücksicht auf die meist stattfindende Erwärmung während des Transportes ist die Abkühlung auf 2—4° C in der Regel angezeigt. Dagegen scheint für die Aufbewahrung eine Temperatur von ca. 10 entschieden zweckmäßiger zu sein als eine solche von 0—5° C. Diese wirkt ähnlich wie eine Pasteurisierung: die Milchsäurebakterien werden in den Hintergrund gedrängt und statt dessen wird allerhand schädlichen Keimen das Feld frei gemacht.

Die beim Pasteurisieren der Milch eintretenden Veränderungen hat Koning (77) nochmals ausführlich behandelt. Mit Rücksicht auf die wachsende Bedeutung, die der pasteurisierten Handelsmilch in den Vereinigten Staaten beigemessen werden muß, haben sich u. a. Ayers und Johnson (5), Koehler und Tonney (75) sowie Whitaker (161) mit entsprechenden Untersuchungen befaßt. Aus diesen geht erneut hervor, daß eine scharfe Kontrolle unbedingt nötig ist, soll das Pasteurisieren nicht schädlich anstatt nützlich wirken.

Besonders vorteilhaft gestaltet sich nach Hanne (48) der Pasteurisierungs-Effekt im sogen. „Hamburger Apparat“ (nach Trautmann). Für den Hausgebrauch empfehlen Bickel und Roeder (11, 12) ihre auf die Verwendung der „Thermos“-Gefäße beruhende Methode („Demo-Sterilisator“).

Die in der Regel zum Nachweis stattgehabter Erhitzung benutzte Peroxydasen-Reaktion glaubten Hesse und Kooper (60) mit dem Auftreten basischer Substanzen im Zusammenhang bringen zu müssen. Durch Grimmer (45) ist diese von vornherein wenig wahrscheinliche Annahme widerlegt worden.

Eine sichere Abtötung aller schädlichen Bakterien unter Schonung der nützlichen Keime (speziell der Milchsäurebakterien) und Erhaltung der nativen Eigenschaften der Milch gewährleistet nach Seiffert (145) die Anwendung des ihm patentierten „Uviol“-Verfahrens. Beweise für diese Angaben wurden nicht geliefert; dagegen haben, nachdem die ungenügende bakterizide Wirkung der ultravioletten Strahlen in colloidhaltigen Flüssigkeiten, speziell auch in der Milch, mehrfach festgestellt worden war, nun auch Roemer und Sames (126) gezeigt, daß von einer „Erhaltung der nativen Eigenschaften“ nicht die Rede sein kann. — Für eine andere Anwendung der ultravioletten Strahlen bei gleichzeitiger starker Abkühlung der Milch haben sich die Erben des R. Kurka (81) gesetzlichen Schutz erteilen lassen.

Die gleichen Vorzüge, die nach Seiffert dem „Uviol“-Verfahren eigen sind, besitzt nach Wiener (163, 164) die von ihm ausgearbeitete Ozonisierung der Milch. Dagegen konnten Bliss (13), Freund (38) u. a. nur die schon mehrfach konstatierte Unbrauchbarkeit des Ozons für diesen Zweck erneut bestätigen.

Recht zahlreich sind die neuerdings erschienenen Arbeiten über fermentierte Milch. In Sauermilch aus dem Dongebiet treten nach Makrinoff (94) neben Laktobazillen besonders schleimbildende Streptokokken in Tätigkeit. In Tättemjölk fand Heinemann (52) neben diesen Organismen auch eine Laktose vergärende Hefe. Mit der Untersuchung des Jaourt hat sich neuerdings Oehler (108) nochmals eingehend beschäftigt: daß er merkwürdigerweise die Laktobazillen im Kalbs- und Lammmagen nicht finden konnte, wurde schon oben erwähnt. Daß in praxi tatsächlich gerade diese Infektionsquelle von hervorragender Bedeutung ist, geht auch aus den Mitteilungen von Magerstein (93) und Winkler (165) hervor. Der nach dem zuletzt genannten Autor im Orient gleichfalls übliche Zusatz von Hühnereiweiß dürfte wohl ähnlich wie Hefeextrakt elektiv auf die Laktobazillen einwirken. Wegen der Brauchbarkeit der Handelspräparate vgl. u. a. Hewlett (61) und Oehler.

Über einige in Montenegro übliche, dem Jaourt nahestehende Sauermilchsorten (Grusavina und Kysla varenika) berichtete Laxa (82). Die entsprechende indische Milchspeise, Dadhi genannt, unterzog Chatterjee (24) einer bakteriologischen Untersuchung. Der von ihm Streptothrix Dadhi genannte Organismus entspricht den Jaourt-Laktobazillen durchaus.

Zwei kürzere Mitteilungen über Kefir und Kumiß veröffentlichte Ginzberg (41). Sehr eingehend hat sich mit dem zuletzt genannten Getränk Rubinsky (130) beschäftigt. Die (ausführlichere) Disertation bringt u. a. zahlreiche historisch sehr interessante bisher auch in der russischen Literatur ganz unbekannt gebliebene Tatsachen.

2. Mikroorganismen in der Butter.

A. Allgemeines über die Mikroflora der Butter.

Die eingehendsten Untersuchungen sind neuerdings der dänischen Butter durch Orla Jensen (70) zuteil geworden, deren Hefen-Gehalt z. T. recht hoch gefunden wurde (bis 420000 Zellen pro g). Proben, die einen „käsigsauren“ Geschmack besaßen, waren auffallend reich an Laktobazillen (bis 21000 pro g). Die gleichen Organismen begegneten auch Hastings und Hammer (50), während über das Vorkommen von Sproßpilzen in Butter die Untersuchungen von Dombrowski (34) sowie Rahn, Brown und Smith (120) noch einige weitere Aufschlüsse gebracht haben.

B. Der Einfluß der Mikroorganismen auf die Qualität der Butter.

Daß die soeben erwähnte nachteilige Änderung des Buttergeschmackes in der Tat auf die Tätigkeit der Laktobazillen zurückzuführen ist, wurde ebenfalls von Jensen experimentell erwiesen. Desgleichen bestätigen sowohl dieses Autors Beobachtungen wie einige weitere von Mazé (98, S. 402) publizierte Mitteilungen erneut den von bestimmten Milchsäure-Streptokokken-Stämmen ausgeübten sehr günstigen Einfluß auf Geschmack und Aroma der Butter. J. Müller (106) glaubte, daß die Aromabildung auf einer Lezithin-

Zersetzung beruhe, und hat sich dementsprechend die Verwendung eines Zusatzes von 2—5% Lezithin zum säuernden Rahm als Mittel zur Verstärkung des Butter-Aromas patentieren lassen.

Über fettzersetzende Organismen haben letzthin Ohta (109), Roussy (129) und Söhngen (147) gearbeitet. Des zuletzt genannten Forschers Veröffentlichungen haben namentlich über die Mehrzahl der in Tätigkeit tretenden Lipasen interessante Aufschlüsse gebracht, während Roussy erwiesen hat, daß für die fettzersetzenden Schimmelpilze besonders die Fettsäuren, weit weniger dagegen das Glyzerin, von Wichtigkeit sind. Lindemann (86) machte darauf aufmerksam, daß ölige Butter gelegentlich auch einfach durch zu starkes Schlagen des Rahmes entstehen kann.

C. Die Beeinflussung des Keimgehalts der Butter.

Orla Jensen (70) weist darauf hin, daß die Rahmsäuerung insofern eine „zweischneidige Waffe" darstellt, als sie neben der vorteilhaften auch eine schädliche Wirkung dadurch herbeiführen kann, daß allerhand Sproßpilze sowie die, den „käsig-sauren" Geschmack bedingenden Laktobazillen in dem sauren käsestoffhaltigen Substrat besonders zusagende Existenzbedingungen vorfinden. Gründliches Waschen der Butter ist demnach unentbehrlich. K. Fischer und O. Gruenert (37) kommen auf Grund einer größeren Zahl von Versuchen, die Haltbarkeit von Butter und Margarine durch einen Zusatz von Benzoe-, Salizyl- oder Borsäure zu erhöhen, zu dem Resultat, daß die Wirkung dieser Konservierungsmittel gegenüber derjenigen einer 3-proz. Kochsalzgabe entschieden zurücksteht. Auf den zuweilen sehr hohen Keimgehalt des Salzes wiesen Rappin und Grosseron (122) nachdrücklich hin. Im Zusammenhang mit eingehenden Prüfungen der Qualität und der zweckmäßigsten Behandlung des Butterpapieres (1/2 Minute Kochen und Abkühlen in 25-proz. Salzlösung) haben A. Burr und A. Wolff (21) den Einfluß der Ausarbeitung und des Salzens der Butter ebenfalls zum Gegenstande ihrer Untersuchungen gemacht. B. W. Hammer (47) empfiehlt, bei der Herstellung von Rahmreifungs-Trockenkulturen die Trocknung im Vakuum über Schwefelsäure vorzunehmen; diese wirke weit weniger schädlich als das langsame Eintrocknen an der Luft.

3. Mikroorganismen im Käse.

A. Allgemeines über die Mikroflora des Käses.

Die große Bedeutung, die der von dem Naturlab ausgehenden Infektion des Käseteiges beizumessen ist, geht aus einer Mitteilung O. Jensens (68) recht deutlich hervor: bei anaërober Züchtung wurden im zweitägigen Labaufguß 500 Millionen Keime pro ccm gezählt. Daß andererseits nicht völlig saubere Gerätschaften als Träger schädlicher Keime nachteilig wirken können, haben Burri und Staub (23) speziell für Käsereithermometer nachgewiesen.

Über die Mikroflora des Brüsseler Käses berichteten Marcas und Huyge (96), über diejenige des (durch sehr geringen Wassergehalt ausgezeichneten) Käses der Tuaregs am mittleren Niger G. de Gironcourt (42); spezielle Untersuchungen über die Beteiligung der betreffenden Organismen am Reifungsprozeß fehlen vorläufig. Daß wie im Emmentaler- so auch im Cheddarkäse die (bisher übersehenen) Laktobazillen recht zahlreich vorhanden und wohl auch von ausschlaggebender Bedeutung für die Qualität des entstehenden Produktes sind, dürfte durch die Mitteilungen von Hastings und Hammer (50), Löhnis (90) und W. Stevenson (150) erwiesen sein. Auf Tafel III meines „Praktikum" (91) ist den charakteristischen großen Laktobazillen-Kolonien (des schottischen Cheddarkäses) die typische „Zerstreuungsform" der Säurestreptokokken (in Gervaiskäse) gegenüber gestellt.

B. Die Tätigkeit der Mikroorganismen im Käse.

In einer sehr ausführlichen Publikation hat P. Mazé (98) die hervorragende Bedeutung der Milchsäurebakterien auch für die Reifung der französischen Weichkäse, vor allem des Brie- und des Camembertkäses scharf in den Vordergrund gestellt. In guten Käsen bilden die „ferments lactiques" fast ausschließlich die Innenflora des frischen Käseteiges. Sie lösen den Käsestoff zum Teil auf und machen ihn plastisch, ebenso bedingen sie in der Hauptsache den spezifischen Geschmack und das Aroma des Käses. Die an der Oberfläche wachsenden Organismen (Pilze und Bakterien des „rouge" [s. unten]) sollen mitwirken, aber sie sollen die Resultate der „fermentation lactique" nicht verdecken.

Die entstehende Säure wird im reifenden Käse von Phosphaten, Kalk, Käsestoff und Ammoniak größtenteils oder vollständig gebunden. W. van Dam (30) weist nachdrücklich darauf hin, daß ein korrekter Anhalt über die wirkliche Azidität des Käseteiges nur durch Messung der H-Ionen-Konzentration, nicht aber durch die bisher üblichen Titrationen gewonnen werden kann. Seine Feststellungen führen ihn zu der Auffassung, daß auch bei der Reifung der säurearmen Hartkäse die Lösung des Käsestoffes großenteils auf die Wirkung der im Lab enthaltenen Enzyme zurückzuführen ist. Die ebenfalls von ihm vertretene unitarische Auffassung (Lab = Pepsin) dürfte allerdings durch die Mitteilungen Rakoczys (121) endgültig widerlegt sein.

Die bisher fehlende eingehende Bestimmung der im Cheddarkäse vorhandenen Fettsäuren, Alkohole und Ester ist 1910 durch S. K. Suzuki, Hastings und Hart (153) durchgeführt worden. Die bisher im Cheddarkäse nicht nachgewiesene Bernsteinsäure wurde sowohl im $3^1/_2$, wie im $5^1/_2$ Monat alten Käse gefunden; Valeriansäure fehlte konstant, Ameisensäure trat erst nach $5^1/_2$ Monaten auf. Auch in diesem Käse verschwindet die Laktose in 3—6 Tagen. Als Hauptquellen der Essig- und Propionsäure werden Laktate, für Butter- und Kapronsäure Fette und Proteïne angesehen.

Boekhout und Ott de Vries (14) sowie van Dam (31) haben die Ursachen der differenten Plastizität des Edamer Käseteiges bei normaler und bei fehlerhafter Reifung ausführlich erörtert. Die (reelle) Azidität sowie die Kochsalzkonzentration sind danach die in erster Linie bestimmenden Faktoren. Abnorme Gasbildung tritt, wie Boekhout und Ott de Vries (15) meinen, beim Verkäsen von Mastitismilch nur dann ein, wenn die Entzündung durch Kolibakterien veranlaßt ist; sie übersehen dabei, daß es auch gasbildende Mastitis-Streptokokken gibt, die nur zufällig bei den wenigen, von ihnen beobachteten Fällen gefehlt zu haben scheinen.

Die normale oberflächliche Rötung der Weichkäse wäre nach A. Wolff (167) in erster Linie auf eine dem Bact. fulvum nahestehende Form zurückzuführen, die Bact. linens benannt wurde. Nach Mazés eingehenden Untersuchungen handelt es sich hierbei jedoch um die Wirkung verschiedener, meist ungefärbter Stäbchen, die auch die Gelatine nicht verflüssigen. Fehlerhafte Färbungen des Emmentalerkäses (rote, braune und schwarze Punktierung des Teiges) sind von Allemann und Kürsteiner (1) sowie Allemann und Thöni (2) näher untersucht worden. Bact. acidi propionici var. fuscum und var. rubrum treten in Tätigkeit; desgleichen wurde die ätiologische Bedeutung der schon 1898 von Burri beschriebenen (ungefärbten) Erreger der „braunen Punkte" experimentell erwiesen. Auf Emmentaler Käserinde ruft das (durch Spirituswaschungen zu unterdrückende) Penicillium casei Staub (149) braune bis purpurfarbige Flecken hervor. Einen Erreger rostfarbiger Flecke in Clevelandkäse benannte H. Huß (67) Pseudomonas Cowardi. Coward (26) isolierte aus rostfleckigem Käse je eine Varietät des Bact. prodigiosum und des Bact. acidi propionici sowie einen Bac. Mahogani. Aus an Harzkäsen auftretendem schwarzen Schleim züchtete A. Wolff (168) eine Varietät des Bact. syncyaneum, die „Bact. denigrans" getauft wurde. Verschiedene Farbstoffbildner, u. a. einen B. mesentericus niger begegneten A. Kossowicz (78) in fehlerhaften Roquefortkäsen.

C. Die Beeinflussung der Reifungsvorgänge.

Die Verwendung von Reifungskulturen bewährt sich nach den Mitteilungen von Aufsberg (4) und Teichert (155) in der Allgäuer Rundkäserei recht gut. Ein unter der Bezeichnung „Tilvetia" im Handel vorkommendes Präparat enthielt nach Teicherts Feststellungen (156) als wirksame Bestandteile ebenfalls Mykoderma und Bac. ε. Das Auftreten der dunklen Punkte im Emmentalerkäse wurde durch die Reinkulturen nicht unterdrückt (1). A. Peter (112) gibt einem von Hohl und Steinegger zusammengestellten Gemisch organischer Säuren als Zusatz zum Labaufguß den Vorzug vor den Liebefelder Kulturen. Burri und Kürsteiner (22) beschäftigten sich ziemlich eingehend mit der Reifung der Milch in der Emmentaler Käserei; ein Zusatz von Milchsäure-Streptokokken bewährte sich hier

wenig. Dagegen haben nach einer Mitteilung von Ott de Vries (110) in der Edamer Käsebereitung die Milchsäurebakterien-Reinkulturen an Stelle der langen Wei jetzt allgemein Aufnahme gefunden. Sehr eingehende Darlegungen über die Bereitung französischer Weichkäse aus pasteurisierter Milch unter Benutzung der vom Pariser Institut Pasteur gelieferten Reinkulturen gibt Mazé (98) in seiner mehrfach zitierten Veröffentlichung. In Deutschland werden nach einer Mitteilung Stiegers (151) diese Kulturen von der „Gesellschaft für Milchbakteriologie“ in Frankfurt (Main) in den Handel gebracht. Aus dem von H. L. Russell (132) erstatteten Jahresbericht der Versuchsstation Wisconsin ist u. a. zu ersehen, daß es 1910 Sammis gelungen ist, nun auch Cheddarkäse vorzüglicher Qualität aus niedrig pasteurisierter Milch zu bereiten. Über die Herstellung von Weichkäsen aus erhitzter Milch machte u. a. auch O. Lindemann (87) einige beachtenswerte Mitteilungen. Rosengren (128) verdanken wir eine ausführliche Darstellung der beim Paraffinieren der Hartkäse in Betracht kommenden Gesichtspunkte. Sal. Gokkes (43) aber wird jedenfalls die gesamte Käsereibakteriologie demnächst überflüssig gemacht haben; nach dem ihm erteilten Deutschen Reichspatent Nr. 239930 (vom 2. VII. 1910) wird einfach der junge Käse in eine zweiteilige Form gebracht und hier der Einwirkung eines elektrischen Wechselstromes von 10000 Volt und 0,2 Ampere unterworfen. 24 Stunden später hat er die Beschaffenheit eines normal ausgereiften Käses erhalten — so sagt wenigstens Sal. Gokkes.

Bibliographie.

1) Allemann, O. und Kürsteiner, J., Schweiz. Milchzeitg. 1911, Nr. 60, 62, 64.
2) — und Thöni, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **25**, 1909/10, S. 8—30.
3) Allyn, L. B., Milk Man **3**, 1910, S. 9, ref. Exp. Station Record **23**, S. 82.
4) Aufsberg, Th., Mitt. d. milchw. Vereins im Allgäu **22**, 1911, S. 33.
5) Ayers, S. H. and Johnson, W. T., U. S. A. Dept. of Agric., Bur. Animal Industry, Bull. **126**, 1910, ref. Exp. Station Record **24**, S. 275.
6) Bach, A., Biochem. Zeitschrift **31**, 1911, p. 443—449.
7) Baehr, J., Archiv f. Hygiene **72**, 1910, S. 91—160.
8) Barthel, Chr., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **26**, 1910, S. 1—47.
9) —, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- und Genußmittel **21**, 1911, S. 513—534.
10) Berberich, F. M. und Burr, A., Allg. Milchztg., Hamburg, **2**, 1911, S. 33.
11) Bickel, A., Molk.-Ztg., Berlin, **21**, 1911, S. 265—267.
12) — und Roeder, H., Berliner klin. Wochenschr. **47**, 1910, S. 1370—1373.
13) Bliss, W. P., Revue générale du lait **8**, 1911, S. 505—515, 532—539, 553—559.
14) Boekhout, F. W. J. und Ott de Vries, J. J., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **28**, 1910, S. 98—111.
15) — —, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **31**, 1911, S. 559—567.
16) Bosworth, A. W. and Prucha, M. J., Journal Biolog. Chemistry **8**, 1910, S. 479 bis 482.
17) Breed, R. S., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **30**, 1911, S. 337—340.

18) Breed, R. S. and Stidger, J. R., Journ. Infect. Diseases **8**, 1911, S. 361, ref. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref. **50**, 1911, S. 231.
19) Bub, M., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **27**, 1910, S. 321—335.
20) Burgess, M. J. and Wheeler, R. V., Journ. Chemic. Society **99**, 1911, S. 667.
21) Burr, A. und Wolff, A., Milchw. Zentralbl. **6**, 1910, S. 241—264.
22) Burri, R. und Kürsteiner, J., Landw. Jahrb. d. Schweiz **24**, 1910, S. 437—466.
23) — und Staub, W., Milchztg. **39**, 1910, S. 340.
24) Chatterjee, G. C., Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig. **53**, 1910, S. 103—112.
25) Choukévitch, J., Ann. de l'Inst. Pasteur **25**, 1911, S. 247—276, 345—367.
26) Coward, T. A., Univ. Leeds and Yorkshire Council Agric. Ed. **77**, 1910, ref. Exper. Station Record **22**, S. 781.
27) Crolbois, J., Compt. rend. (Paris) **149**, 1909, S. 411—412.
28) Currie, J. N., Journ. Biologic. Chemistry **10**, 1911, S. 201—211.
29) Dam, W. van, Zeitschr. f. physiol. Chemie **58**, 1909, S. 295—330.
30) —, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **26**, 1910, S. 189—222.
31) —, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1911, S. 7—40.
32) Deutsch, M., Böhm. Zeitschr. f. Zuckerindustrie **34**, 1911, S. 567, ref. Chem. Ztg. **34**, 1910, Repert. S. 374.
33) Distaso, A., Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig. **59**, 1911, S. 48—63.
34) Dombrowski, W., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **28**, 1910, S. 345—402.
35) Esten, W. M., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **27**, 1910, S. 225.
36) Faitelowitz, A., Milchw. Zentralbl. **6**, 1910, S. 299, 361, 420.
37) Fischer, K. und Gruenert, O., Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- und Genußmittel **22**, 1911, S. 553—582.
38) Freund, Chemiker-Ztg. **35**, 1911, S. 905.
39) Galle, E., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **28**, 1910, S. 461—472.
40) Gerber, N. und Ottiker, A., Milchw. Zentralbl. **6**, 1910, S. 316—327.
41) Ginzberg, A., Biochem. Zeitschr. **30**, 1910, S. 1—24, 25—37.
42) Gironcourt, G. de, Compt. rend. de l'Acad. (Paris) **153**, 1911, S. 191—194.
43) Gokkes, S., Chemiker-Ztg. **35**, 1911, Repert. S. 578.
44) Gorini, C., Revue génér. du lait **8**, 1910, S. 337—346.
45) Grimmer, W., Milchw. Zentralbl. **7**, 1911, S. 395—402.
46) Gutzeit, E., Milchw. Zentralbl. **7**, 1911, S. 193—211.
47) Hammer, B. W., Journ. Medic. Research **24**, 1911, S. 527—530, ref. Bull. de l'Inst. Pasteur **9**, S. 830.
48) Hanne, R., Gesundheits-Ingenieur **34**, 1911, S. 489—498.
49) Harden, A. and Norris, R. V., Proceed. Roy. Soc. London [B] **82**, 1910, S. 645 bis 649.
50) Hastings, E. G. and Hammer, B. W., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **25**, 1910, S. 419—426.
51) — and Hoffmann, C., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **25**, 1910, S. 465—470.
52) Heinemann, P. G., Science [N. S.] **33**, 1911, S. 630.
53) — and Class, E., Journ. Americ. Public Health Assoc. **1**, 1911, S. 209, ref. Exper. Station Record **25**, S. 81.
54) — and Hefferan, M., Journ. Infect. Diseases **6**, 1909, ref. Revue génér. du lait **7**, S. 548.
55) — Luckhardt, A. B. und Hicks, A. C., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **27**, 1910, S. 230.

56) Helbig, Pharmaz. Zentralhalle **51**, 1910, S. 1051—1053.
57) Herter, C. A. and Kendall, A. J., Journ. Biologic. Chemistry **7**, 1910, S. 203—236.
58) Heryng, T., Compt. rend. de la Soc. de Biologie **68**, 1910, S. 668 f.
59) Hesse, A. und Kooper, D. W., Milchw. Zentralbl. **6**, 1910, S. 412—420.
60) — —, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- und Genußmittel **21**, 1911, S. 385—393.
61) Hewlett, R. T., Nature **85**, 1911, p. 338.
62) —, Villar, S. and Revis, C., Journ. of. Hyg. **9**, 1909, S. 271—278, **10**, 1910, S. 56—91, **11**, 1911, S. 97—104.
64) Heygendorff, von und Meurer, Milchw. Zentralbl. **6**, 1910, S. 529—533.
65) Höyberg, H. M., Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. **21**, 1911, S. 133—147.
66) Hofmann-Bang, N. O., Ber. Kgl. Veterinär- og Landbohöjsk. Labor. f. Landökon. Forsög **68**, 1910, ref. Exper. Station Record **23**, S. 280.
67) Huß, H., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **25**, 1910, S. 401—406.
68) Jensen, Orla, Molkerei-Ztg., Berlin, **20**, 1910, S. 169 f.
69) —, Revue génér. du lait **8**, 1910, S. 49—60.
70) —, Revue génér. du lait **8**, 1910, S. 409—417.
71) Kellner, O., Eisenkolbe, P., Flebbe, R. und Neumann, R., Landw. Vers.-Stat. **72**, 1910, S. 437—458.
72) Kendall, A. J., Journ. Medic. Research **22**, 1910, S. 153, ref. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref. **47**, S. 394.
73) Klotz, O. and Rankin, A. C., Journ. Infect. Diseases **7**, 1910, S. 67, ref. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref. **48**, S. 212.
74) Koch, A. und Hoffmann, C., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **30**, 1911, S. 433—436.
75) Koehler, G. and Tonney, F. O., Journ. Americ. Medic. Assoc. **56**, 1911, S 713 bis 718, ref. Experim. Station Record **24**, S. 678.
76) Koestler, G., Molkerei-Ztg., Berlin, **20**, 1910, S. 146 f.
77) Koning, C. J., Milchw. Zentralbl. **6**, 1910, S. 127, 177, 222, 264, **7**, 1911, S. 97, 145.
78) Kossowicz, A., Zeitschr. f. d. landwirtsch. Vers.-Wesen in Österreich **14**, 1911, S. 59—62.
79) Kruijff, E. de, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **26**, 1910, S. 65—74.
80) Kuntze, W., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **30**, 1911, S. 1—53.
81) Kurka, R., Chemiker-Ztg. **35**, 1911, Repert. S. 636.
82) Laxa, O., Revue génér. du lait **8**, 1910, S. 201 f.
83) —, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- und Genußmittel **21**, 1911, S. 417—420.
84) Lenzen, H., Arb. a. d. bakt. Labor. d. Städt. Schlachthofes zu Berlin, Heft **3**, 1911, ref. Milchw. Zentralbl. **7**, 1911, S. 377.
85) Letzring, M., Mitt. d. Deutsch. Landw. Gesellsch. **26**, 1911, S. 656 f.
86) Lindemann, O., Landw. Wochenbl. für Schleswig-Holstein **60**, 1910, S. 294—297.
87) —, Molkerei-Ztg., Hildesheim, **24**, 1910, S. 1735.
88) Lobeck, Molkerei-Ztg., Berlin, **19**, 1909, S. 606.
89) —, Molkerei-Ztg., Berlin, **20**, 1910, S. 315.
90) Löhnis, F., Centralblatt f. Bakt., II. Abt., **29**, 1911, S. 335.
91) —, Landw.-bakteriologisches Praktikum, 1911.
92) Luxwolda, W. B., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **31**, 1911, S. 129—174.
93) Magerstein, V. Th., Wiener landw. Zeitg. **60**, 1910, S. 459.
94) Makrinoff, S., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **26**, 1910, S. 374—388.
95) Malpeaux, Sucr. indigène **76**, 1910, S. 292, ref. Chem. Ztg. **34**, 1910, Repert. S. 538.
96) Marcas, L. et Huyge, C., Revue génér. du lait **8**, 1910, S. 249, 273.

97) Marcas, L. et Huyge, C., Revue génér. du lait 8, 1911, S. 481—486.
98) Mazé, P., Ann. de l'Inst. Pasteur **24**, 1910, S. 395—427, 435—466, 543—562.
99) Meyer, J., Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt **34**, 1910, S. 115—121.
100) Meyer, W., Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilkunde **36**, 1910, S. 583—633.
101) Miehe, H., Arbeiten d. Deutsch. Landw. Gesellsch. **196**, 1911.
102) Morgen, A., Beger, C. und Westhaußer, F., Landw. Vers.-Stat. **73**, 1910, S. 285—396.
103) — — —, Landw. Vers.-Stat. **75**, 1911, S. 265—320.
104) Morres, W., Molk.-Ztg., Hildesheim, **23**, 1909, S. 1319—1321, **24**, 1910, S. 1837 f.
105) —, Milchw. Zentralbl. **7**, 1911, S. 441—445.
106) Müller, J., Chemiker-Ztg. **34**, 1910, Repert. S. 254.
107) Nicolas, E., Chemiker-Ztg. **34**, 1910, S. 249.
108) Oehler, R., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **30**, 1911, S. 149—154.
109) Ohta, K., Biochem. Zeitschr. **31**, 1911, S. 177—194.
110) Ott de Vries, J. J., Molk.-Ztg., Berlin, **21**, 1911, S. 469 f.
111) Overgaard, J. C., Zeitschr. d. Landw. Kammer f. d. Prov. Schlesien **14**, 1910, S. 1410—1413.
112) Peter, A., Molk.-Ztg., Berlin, **21**, 1911, S. 529 f.
113) Petruschky, J., Verhandl. d. Gesellsch. dtsch. Naturf. u. Ärzte **82**, 1910, Teil II, 2, S. 255 f.
114) Philippe, E., Mitt. Schweizer. Gesundheitsamts **2**, 1911, S. 1—36, ref. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- und Genußmittel **22**, 1911, S. 616.
115) Pies, W., Milchw. Zentralbl. **6**, 1910, S. 537—540.
116) Poppe, K., Dtsch. Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundh.-Pflege **42**, 1910, S. 234—256.
117) Prescott, S. C. and Breed, R. S., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **27**, 1910, S. 230.
118) Profé, O., Der Tierarzt **50**, 1911, S. 233—241.
119) Puppel, R., Verh. d. Gesellsch. dtsch. Naturf. u. Ärzte **82**, 1910, Teil II, 2, S. 256 f.
120) Rahn, O., Brown, C. W. und Smith, L. M., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **26**, 1910, S. 47—54.
121) Rakoczy, A., Zeitschr. f. physiol. Chemie **68**, 1910, S. 421—463.
122) Rappin und Grosseron, Th., Molk.-Ztg., Berlin, **20**, 1910, S. 433 f.
123) Ravenel, M. P., Hastings, E. H. and Hammer, B. W., Journ. Infect. Diseases **7**, 1910, S. 38—46, ref. Exper. Station Record **22**, S. 578.
124) Reinhardt, R. und Seibold, E., Biochem. Zeitschr. **31**, 1911, S. 294—320, 385—396.
125) — —, Monatshefte f. prakt. Tierheilkunde **22**, 1911, S. 215—224.
126) Roemer, P. H. und Sames, Th., Hygien. Rundschau **20**, 1910, S. 873—877.
127) — —, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- und Genußmittel **20**, 1910, S. 1—10.
128) Rosengren, L. Fr., Milchztg. **39**, 1910, S. 579, 589.
129) Roussy, A., Compt. rend. de l'Acad. (Paris) **153**, 1911, S. 884—886.
130) Rubinsky, B., Studien über den Kumiß, Diss. phil. Leipzig, 1910, gekürzt (von S. 24 ab) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **28**, 1910, S. 161—219.
131) Rullmann, W., Arch. f. Hyg. **73**, 1910, S. 81—144.
132) Russell, L. H., Agric. Exp. Stat. Univ. Wisconsin, Bull. **203**, 1911, S. 2.
133) Sadler, W., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **29**, 1911, S. 1—3.
134) Sarcin, R., Circ. hebd. du Syndicat des fabric. de sucre de France, Nr. 1079, 28. XII. 1909, ref. Zeitschr. d. Ver. Dtsch. Zuckerind. **47**, 1910, S. 105.
135) Sarthou, J., Compt. rend. de l'Acad. (Paris) **150**, 1910, S. 119—121.

136) Sarthou, J, Journ. de pharm. et de chimie [7] 1, 1910, S. 113—118, 387—393, ref. Chem. Centralbl. [5] 14, 1910, I, S. 1159, 2128.
137) Sassenhagen, M., Arch. f. Kinderheilkde. 53, 1910, S. 281—332.
138) Schern, K., Dtsche. med. Wochenschr. 37, 1911, S. 933—934.
139) —, Berliner tierzärztl. Wochenschr. 27, 1911, S. 764.
140) Schmöger, M., Fühlings landw. Zeitg. 59, 1910, S. 652—656, 760.
141) Schröter, O., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 32, 1912, S. 181—192.
142) Schümann, Milchztg. 40, 1911, S. 2—4.
143) Schultze, A., Berl. tierärztl. Wochenschr. 27, 1911, S. 90—95.
144) Seibold, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig. 55, 1910, S. 301—325.
145) Seiffert, M., Mitt. d. Dtsch. Milchw. Vereins 27, 1910, S. 130—138.
146) —, Milchw. Zentralbl. 7, 1911, S. 364—371.
147) Söhngen, N. L., Verslag Wis- en natuurkund. Afd. Akad. Amsterdam (a) 19, 1910/11, S. 689—703, (b) S. 1263—1274, (c) 20, 1911, S. 126—130.
148) Spindler, Fr., Biochem. Zeitschr. 30, 1911, S. 384—412.
149) Staub, W., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 31, 1911, S. 454—466.
150) Stevenson, W., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 30, 1911, S. 345—348.
151) Stieger, W., Molk.-Ztg., Hildesheim, 25, 1911, S. 1309 f.
152) Stutzer, A., Fühlings landw. Zeitg. 60, 1911, S. 239—251.
153) Suzuki, S. K., Hastings, E. G. and Hart, E. B., Journ. Biologic. Chemistry 7, 1910, S. 431—458.
154) Tangl, Fr. und Weiser, St., Landw. Vers.-Stat. 74, 1911, S. 263—342.
155) Teichert, K., Milchw. Zentralbl. 7, 1911, S. 74—77.
156) —, Mitt. Milchw. Ver. im Allgäu 25, 1911, S. 56.
157) Torrey, J. C. and Rahe, A. H., Journ. Infect. Diseases 7, 1910, S. 377—392, ref. Exp Station Record 23, S. 179.
158) Wehmer, C., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 28, 1910, S. 97 f.
159) Weigmann, H., Mykologie der Milch 1911.
160) — und Wolff, A., Milchw. Zentralbl. 7, 1911, S. 529—534.
161) Whitaker, G. M., U. S. A. Departm. of Agriculture, Bur. Animal Industrie, Bull. 138, 1911.
162) White, B. and Avery, O. T., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 25, 1909/10, S. 161—177.
163) Wiener, E., Wiener klin. Wochenschr. 23. 1910, S. 967—970.
164) —, Chemiker-Ztg. 35, 1911, S. 1112.
165) Winkler, W., Monatshefte f. Landwirtschaft 2, 1909, S. 315—324.
166) —, Wiener landw. Zeitg. 61, 1911, S. 899.
167) Wolff, Arth., Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 28, 1910, S. 417—422.
168) —, Milchw. Zentralbl. 7, 1911, S. 295—303.

Referate.

I. Gärungsphysiologie und allgemeine Mykologie.

Henneberg, W. Die „Schlagprobe" von abgepreßten Hefen. Ein Beitrag zur Erkennung des physiologischen Zustandes der Hefezellen. Ztschr. f. Spiritusindust. 34, 1911, Nr. 8—11.

Viele Praktiker versuchen die in Hefefabriken gewonnene, abgepreßte Hefe mittels der Wurfprobe oder der Schlagprobe zu überprüfen. Im ersten Falle wird öfters eine kleine, etwa haselnußgroße Kugel aus der Hefe geformt und beobachtet, wie sich dieselbe beim Hinwerfen verhält, d. h. ob sie fest liegen bleibt oder elastisch wieder emporspringt. Häufiger geschieht wohl die Wurfprobe in der Weise, daß man eine Handvoll zusammengekneteter Hefe möglichst fest auf den Fußboden wirft und danach feststellt, ob sie trocken geblieben oder „backig" geworden ist. Bei der Schlagprobe wird die Hefe in ein Handtuch eingewickelt und ihre Festigkeit durch ein- bis dreimaliges möglichst festes Aufschlagen auf den Tisch geprüft. Führt man diese Methode durch, so kann man beobachten, daß manche Proben durchaus unverändert und fest bleiben, andere völlig naß werden, während manche einen weniger feuchten Zustand annehmen. Verf. hat viele Hefen auf diese Weise untersucht und zunächst folgendes feststellen können. Die Hefen aus dem Großbetriebe, welche fest blieben, waren meistens Lüftungshefen, dagegen enthielten Hefen, welche bei der Schlagprobe sehr naß wurden, viel Kahmhefe. Henneberg hat dann später seine Untersuchungen auf selbstgezüchtete Reinzuchthefen ausgedehnt. Auch bei diesen Versuchen blieben die normalen, unter Lüftung hergestellten Hefen fest. Hierbei spielte Über- oder Unterernährung keine Rolle. Dasselbe war auch der Fall, wenn im Lüftungsverfahren verschieden lange Zeiten eingehalten oder verschieden große Ansäuerungsmengen und schließlich verschiedene Heferassen geprüft wurden. Die geernteten Hefemengen wurden dagegen bei der Schlagprobe weich bezw. naß, wenn die Ernte ungewöhnlich frühzeitig stattfand, oder die Hefemenge, die zur Einsaat gelangte, sehr klein gewesen war oder eine Lüftung der Würze während der Herzucht fehlte. Auf Grund seiner vielfachen Beobachtung kommt Henneberg zu folgenden Schlußsätzen: 1. Die bei der Schlagprobe naßwerdenden Hefemassen enthalten Zellen mit nicht festem („Weichplasmazellen") und sehr leicht reizbarem Plasma („Reizplasmazellen"). 2. Letztere bilden sich vor allem bei sehr schneller Vermehrung, wie sie bei geringer Hefeneinsaat stattfindet, und zwar sowohl aus den eingesäten „Mutterzellen", wie aus den neuentstandenen Tochterzellen. Dasselbe ist der Fall, wenn bei größerer Hefeeinsaat nur ein kleinerer

Teil fortpflanzungsfähig ist. 3. Da dieser Plamazustand in der Regel nur vorübergehend ist, muß zu seiner Beobachtung die Hefeernte frühzeitig stattfinden. Der Zustand dauert in dickeren Würzen ohne Lüftung am längsten an. 4. Die in Hefefabriken gewonnenen Hefemengen zeigen „nicht schlagfeste Hefezellen", wenn zu kleine Einsaaten stattfinden, wenn bei größerer Hefeeinsaat nur ein kleiner Teil der Zellen fortpflanzungsfähig ist, wenn das Wachstum der Hefe irgendwie gehemmt wurde oder wenn die Ernte frühzeitig stattfand. 5. Eine starke Infektion mit frisch herangewachsener Kahmhefe kann ebenfalls ein Naßwerden von Preßhefe bei der Schlagprobe bedingen. 6. Will man Naßwerden der Hefemenge, d. h. die Bildung von nicht schlagfestem Zelleiweiß verhindern, so ist anzuwenden: größere Hefeeinsaat, spätere Hefeernte, längeres Lüften, höhere Temperatur, dünnere Würzen bezw. Maischen, Abwesenheit von Kahmhefe. 7. Nicht schlagfeste Hefe ist nicht oder nicht besonders haltbar. 8. Sie ist zum Backen nicht geeignet, wenn die Nichtschlagfestigkeit durch Kahmhefe verursacht wird. 9. Die Schlagprobe ist von wissenschaftlichem Interesse und dient zur Erkennung des physiologischen Zustandes des Zelleiweißes. Es können unterschieden werden Festplasma-, Reizplasma-, Weichplasma- und Krankplasma-Zellen. Zikes.

Feuerstein, G. Versuche über den Einfluß von Säure auf infizierte Brauereihefe im Laboratorium und in der Praxis. Wochschr. f. Brauerei Nr. 2 1911, S. 16.

Verf. versuchte Kulturhefe durch Behandlung mit Säuren von Fremdorganismen zu befreien, ohne daß deren Vermehrung, Gärkraft usw. alteriert werden sollte. Die Hefe wurde etwa 7 Stunden lang mit den Säuren, und zwar bei verschiedener Konzentration derselben, in Berührung gebracht und dann das Absetzen der Hefe sowie die Gärung beobachtet, ferner die Endvergärung und die Menge der geernteten Hefe bestimmt. In gewissen Verdünnungen waren die meisten Säuren imstande Sarcinen zu vernichten. Eine 0,2proz. Salpetersäure befreite die Hefe sowohl von Sarcina, Torula wie auch von Milch- und Essigbakterien. Praktisch wurden die Versuche mit Schwefelsäure im Großen verwertet, als notwendig hat sich aber nach erfolgter Säurewirkung eine nachträgliche Neutralisation erwiesen. Zikes.

Bergsten, K. Wie soll die Hefereinzucht in der Brauerei zweckmäßig gehandhabt werden? Ztschr. f. ges. Brauw. Nr. 4, 1911, S. 39.

Verf. betont, daß die Reinzuchtshefe unter denselben Bedingungen gezüchtet werden müsse, wie die Hefe im Betriebe. Die Reinzuchtshefe soll daher nur in der gleichen Betriebswürze, für welche sie später bestimmt ist, gezüchtet werden, ferner sollen bei der Reinzucht möglichst tiefe Temperaturen eingehalten und endlich soll nur soviel gelüftet werden, als nötig ist. Verf. empfiehlt als Gärbottiche Aluminium-Eisenbottiche, in welchen die Hefe fest absitzt und einen guten Bruch zeigt. Zikes.